UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA MEDICA



BIONOBIA DE Culex p. quinquelasciatus SAY, 1823 Y DETECCION DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON) en los mosquitos (dipiera: culicidae) em MUNICIPIOS DEL AREA METROPOLITANA DE MONTERREY, NUEVO LEON, MEXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA

PRESENTA:

M. C. ARMANDO ERICK ELIZONDO QUIROGA

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. FEBRERO 2005

D

Z5320 FCB 2005 .E4

2005

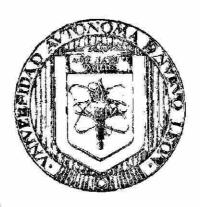




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS LABORATORIO DE ENTOMOLOGIA MEDICA



BIONOMIA DE Culex p. quinquetasciatus SAY. 1823 Y DETECCION DEL VIRUS DEL CESTE DEL NILO (VON) EN LOS MOSQUITOS (DIPTERA, CULICIDAE) EN MUNICIPIOS DEL AREA METROPOLITANA DE MONTERREY, NUEVO LEON, MEXICO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL DIRECTITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON CAS ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGIA

PRESENTA:

M. C. ARMANDO ERICK ELIZONDO QUIROGA

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. FEBRERO 2005

TD Zs FC.



UANI

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

ÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

FONDO TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA MÉDICA



BIONOMÍA DE Culex p. quinquefasciatus SAY, 1823 Y DETECCIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON) EN LOS MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) EN MUNICIPIOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA

PRESENTA

M. C. ARMANDO ERICK ELIZONDO QUIROGA

SAN NICOLÁS DE LOS GARZA, N. L.,

FEBRERO 2005

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS LABORATORIO DE ENTOMOLOGÍA MÉDICA

BIONOMÍA DE Culex p. quinquefasciatus SAY, 1823 Y DETECCIÓN DEL VIRUS DEL OESTE DEL NILO (VON) EN LOS MOSQUITOS (DIPTERA: CULICIDAE) EN MUNICIPIOS DEL ÁREA METROPOLITANA DE MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO.

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ENTOMOLOGÍA

PRESENTA

M.C. ARMANDO ERICK ELIZONDO QUIROGA

COMISIÓN DE TESIS

Ildefonso Fernández Salas, Ph. D.

Juan Francisco Contreras Cordero, Dr.

Presidente

Affan 1

Secretario

Adriana E. Flores Suárez, Dra.

José Ignacio Gonzátez Rojas, Dr.

Vocal

Maria Luisa Rodriguez Tovar, Dra.

Vocal

San Nicolás de los Garza, N. L.,

Febrero 2005

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Armando Elizondo Garza Sonia Quiroga de Elizondo Por todo el apoyo que me siguen brindando

A MIS HERMANOS

Darwin E. Elizondo Quiroga Por todo la ayuda que siempre nos hemos brindado

Sonia E. Elizondo Garccia Dick J. Elizondo Garcia Jose Armando Elizondo Garcia Por ser mis hermanos en cualquier lugar donde se encuentren

A MIS TIOS

Salvador Méndez Díaz Celia Quiroga de Méndez

Por la amistad que siempre me han brindando

UANL

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

A MI NOVIA

Lorena Lizzeth Castilleja Ruiz Por todo el cariño que me ha otorgado.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por su apoyo para la realización de mis estudios de Doctorado con especialidad en Entomología (Becario No.144569).

Al Centro de Control y Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) por su apoyo en la realización de esta investigación (Grant U50/ CCU 820510-01)

Al Ph. D. Ildefonso Fernández Salas, por darme la oportunidad de ingresar aa Doctorado en Entomología, y por la ayuda recibida en la elaboración y dirección de esta investigación.

A la Dra. Adriana E. Flores Suárez, por todas las enseñanzas teóricas y prácticas brindadas en estos años, así como por ser parte de mis sinodales al exponer este trabajo.

A la Dra. María Luisa Rodríguez Tovar, por todas sus enseñanzas en el curso de Entomología Médica, además de darme consejos para esta investigación.

Al Dr. Juan Francisco Contreras Cordero, por ser parte de mi comisión de tesis, además de sus enseñanzas en Arbivirología.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Al Dr. José Ignacio González Rojas, por ser parte de mi comisión de tesis, además de sus enseñanzas en las colectas de aves.

Al Biol. Darwin E. Elizondo Quíroga, Dr, Gustavo Ponce García, Dr. Saul Lozano Fuentes, M. V. Z. Luis A. Ibarra Juárez, Biol. Yuri O. Ayala Sulca, Biol. Quetzaly K. Siller Rodríguez, Ing. Aldo Ortega, Biol. Pedro Mis Ávila, Biol. Juan Simón González G., Biol. Carolina Álvarez por toda la ayuda brindada para la realización de esta investigación.

A la Biol. Lorena L. Castilleja Ruiz, por todo el apoyo brindado en la realización del escrito de este trabajo de tesis.

A mis compañeros desde 1998 en el Laboratorio de Entomología Médica: M.C. Artemio Barragán Gómez, M.C. Gabriel Martínez Jiménez, M.C. Ma. Haydeé Loaiza Becerra, M.C. Marco Antonio Domínguez Galera, M.C. Jaime Salomón Grajales, M.C. Juan de Dios Aguilar Gueta, M.C. Cristina Bobadilla U., M.C. Marco A. Peregrina Muro, Dr. Saul Lozano Fuentes, M.C. Karla Saavedra, y M.C. Florita Ramos.

A mis hermanos de la Facultad de Biología: Biól. Edmundo García Vazquez, Salvador Montes Ramírez, Leonel Alanis Zúñiga, M.C. Juan de Dios Aguilar Gueta, Q.B.P. Francisco Reyes Mendez y a Alejando Sustaita Martínez, Q.B.P. Alfredo Córdova Galvan, Q.B.P. Balam Araujo Velásquez, Q.B.P. Alejandro Lozada Alton y el Ing. Carlos Mendoza por todos los momentos y situaciones que han surgido a lo largo de estos años.

A los siguientes compañeros y amigos: Lic. Laura Gaspar Herrera, Biol. Amanda Cavazos A., Biol. Gerardo Ramos Alfano, Biol. José Lucio Benitez Rivera, Biol. José Juan Medellin Vazquez, Biol. Gabriel Ruiz Ayma, Biol. Ricardo Maldonado Cruz, Biol. Roberto Mercado Montero, Biol. Jessica Soto Salazar, M.C. Herminio Fuentes Velez, Biol. Homero F. Villarreal Martínez, Biol. Servando Quiroz Bustos, Biol. Rodolfo Esquivel Escobedo, Q.B.P. Miran Reyna Treviño, Biol. Mario Novales Terreros, Biol. Verónica Luna López, Biol. Mario Arizpe Frias, Biol. Manuel Muzquiz Ortiz, Biol. Juan Manuel Miranda Garay, Biol. Nancy Torres Rios, Biol. Carlos A. García Sánchez, Biol. Carlos Aguirre Raynaud, Biol. Ana Lilia Vargas Arriola, Biol. Eduardo Sánchez Zavala, Biol. Pablo Chavez Zamarripa, Alfredo Alejo Pineda, Biol. Abraham Castro, Julio Treviño Macías, Biol. Antonio Hernández Ramírez, Biol. Juan Alberto García Solis, Noe Vela Reynoso y a todos los compañeros que he conocido.

RESUMEN GENERAL

La fiebre del Oeste del Nilo es una enfermedad causada por el virus del VON, un Flavivirus. Es una enfermedad transmitida por vectores que se propaga a una amplia gama de vertebrados a través de mosquitos infectados y garrapatas. Al igual que los casos en humanos, las primeras aves infectadas por el VON en América, se identificaron en agosto del 99 en New York; y el principal vector identificado fue Cx. pipiens. Se ha colectado en Nuevo León a Cx.p. quinquefasciatus Say, 1823 en 13 municipios, por lo que es un vector puente potencial de este virus. En este trabajo se estudiaron los aspectos bionomicos del mosquito Cx. quinquefasciatus de algunos municipios del área Metropolitana de Monterrey, N. L., así como se detectó si estuvieron expuestos al VON. Los objetivos particulares fueron: 1.-Obtener los Patrones de Selección de Hospedero de Cx. quinquefasciatus y se obtuvo que de las hembras alimentadas colectadas en casas en dos localidades, 36.4% y 28.4% contenían sangre humana, y 38.7% y 56.7% respectivamente contenían sangre de ave. Los Índices de Sangre Humana (HBI) fueron de 23.0% y 15.4%, respectivamente. Las tasas de forrajeo (FR) para humanos fueron menores a 1 en ambos sitios, y 1.7 y 3.2 respectivamente, para aves. 2.- Estimar el ciclo gonotrofico y la sobrevivencia por el método de Marcaje-Liberación-Recaptura. 2,352 hembras fueron liberadas, de las cuales 110 (4.6%) fueron recapturadas durante 12 días. La longitud del ciclo gonotrofico fue de 3 dias. La sobrevivencia diaria 0.873. 3.- La detección de grupos de mosquitos con el VON, se encontró que de los 238 grupos de mosquitos, siendo cerca del 35% de Cx. quinquefasciatus y en 1 grupo de ellos se encontró positivo al VON con títulos de 10² ufp/ ml. Al observar los resultados anteriores (incluyendo los de comportamiento), se concluyó que existe la posibilidad que Cx. quinquefasciatus pueda servir como vector puente del VON entre aves- humanos.

INDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL2
Virus del Oeste del Nilo (VON) (Descripción y Sintomatología)2
Distribución del VON3
Introducción del VON en América4
Actividad del VON en el periodo 2000-20044
Vectores del VON en el Mundo5
Culex quinquefasciatus como vector del VON6
JUSTIFICACIÓN Y ORIGINALIDAD
LITERATURA CITADA8
CAPITULO 2: Patrones de Alimentación de Hospederos de Cx. quinquefasciatus
en Guadalupe y Escobedo, N. L., México
RESUMEN19
INTRODUCCIÓN20
OBJETIVOS21
HIPOTESIS21
ANTECEDENTES22

Busqueda de Hospedero22
Índice de Sangre Humana22
Identificación de la Alimentación Sanguínea23
Prueba de ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)24
Generalidades en los Patrones de Alimentación de los Mosquitos24
Investigaciones sobre los patrones de Alimentación de los Mosquitos25
Generalidades sobre la Tasa de Forrajeo
Investigaciones sobre la Tasa de Forrajeo32
MATERIAL Y METODO
Descripción del Área de Estudio35
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓ
Colecta de Mosquitos35
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
Identificación de las Alimentaciones Sanguíneas
Análisis de Datos37
RESULTADOS38
Colecta de Mosquitos
Índice de Sangre Humana (HBI)38

Tasa de Forrajeo (FR)39
DISCUSIONES41
CONCLUSIONES44
REFERENCIA CITADAS45
CAPITULO 3: Estimación de la duración del Ciclo Gonotrofico y Sobrevivencia
Diaria de Cx. quinqufasciatus en el Noreste de México
RESUMEN PRE PLANMANT
INTRODUCCIÓN 61
OBJETIVOS
HIPOTESIS 63
ANTECEDENTES DAD AUTÓNOMA DE NUEVO L.64ÓN
Generalidades sobre Ciclos Gonotroficos
Evaluación de Métodos de Trampeo de Culícidos
Comportamiento de Oviposición de Cx. quinquefasciatus y otros culícidos66
Duración de los Ciclos Gonotroficos y Determinación de la Tasa de Sobrevivencia
En especies del Género Culex

Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Sobrevivencia en	
especies del Género Anopheles71	
Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Sobrevivencia en	
especies del Género Aedes	
MATERIALES Y MÉTODO75	
Área de Estudio75	
Hembras Silvestres Capturadas	
Sobrevivencia77	
RESULTADOS	
Hembras Silvestres Capturadas	
Sobrevivencia79	
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓ DISCUSIONES80	N
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS	
CONCLUSIONES83	
REFERENCIAS CITADAS84	
CAPITULO 4: Detección del Virus del Oeste del Nilo en Cx. quinquefasciatus de	
Nuevo León, México97	
RESUMEN 98	

INTRODUCCIÓN99
OBJETIVOS100
HIPOTESIS100
ANTECEDENTES101
Sintomatología de la Infección del VON en Humanos
Historia del VON
Estructura del VON
Aislamiento en Mosquitos del VON
Efecto de la Temperatura sobre el VON y otros Arbovirus
Comparación de los Métodos de Detección y Transmisión
Experimental del VON
MATERIAL Y METODO NGENERALDE.BIBLIOTECA 108
Descripción del Área de Estudio
Colecta de Mosquitos
Aislamiento del Virus
RESULTADOS112

Colecta de Mosquitos	112
DISCUSIONES	114
CONCLUSIONES	117
REFERENCIAS CITADAS	118



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INDICE DE TABLAS, FIGURAS Y FOTOGRAFIAS

Figura 1. Posición taxonómica y descripción de hembra, macho
y larva de Cx. quinquefasciatus Say, 182313
Figura 2. Fotografía del mosquito Cx. quinquefasciatus.
Figura 3. Distribución Geográfica de los virus del Serocomplejo Encefalitis Japonesa16
Figura 4. Ciclo de transmisión del virus del Oeste del Nilo en América
STONOM
Tabla 1. Mosquitos Culex quinquefasciatus capturados en intradomicilio y peridomicilio.
La colecta en los sitios de reposo se condujo en los Municipios de Guadalupe y Escobedo,
N. L., México, durante Octubre-Noviembre 2003. Los datos se presentan como numero de
capturados, Analizados para la identificación de las alimentaciones de sangre (Tipo de
hospedero), alimentadas, sin alimentar, grávidas y machos
Tabla 2. Identificación de las alimentaciones sanguíneas del mosquito Culex
quinquefasciatus capturados en intradomicilio y peridomicilio. La colecta en los sitios de
reposo se condujo en los Municipios de Guadalupe y Escobedo, N. L., México una sitio urbano del Área Metropolitana de Monterrey, durante Octubre- Noviembre 200351
Tabla 3. Índices de sangre humana ponderados y no ponderados de las alimentaciones
de sangre de Humano. Ave, Humano-ave y otros hospederos de Culex quinquefasciatus
en colectas de intra y peridomicilio. Las colectas se realizaron en el municipio
de Guadalupe, N. L., México, durante Octubre-Noviembre 200352
Tabla 4. Índices de sangre humana ponderados y no ponderados de las alimentaciones
de sangre de Humano, Ave, Humano-ave y otros hospederos de Culex quinquefasciatus
en colectas de intra y peridomicilio. Las colectas se realizaron en el municipio de
Escobedo, N. L., México, durante Octubre-Noviembre 200353

Tabla 5. Tasa de Forrajeo (FR) estimada para las hembras de <i>Culex quinquefasciatus</i> .
Las colectas se realizaron en el municipio de Guadalupe, N. L., México, durante
Octubre-Noviembre 200354
Tabla 6. Tasa de Forrajeo (FR) estimado para hembras de Culex quinquefasciatus. Las
colectas se realizaron en el municipio de Escobedo, N. L., México, durante
Octubre-Noviembre 200355
Foto 1. Colecta Peridomiciliar (Aspirador motorizado de espalda)
TONOM
Foto 2. Colecta intradomiciliar (Apirador motorizado de espalda)
Foto 3. Muestras de sangre en papel filtro Whatman No. 2
Foto 4. Microplaca etiquetada con número de muestra y controles (+ y -)57
Foto 5. Microplaca con reacciones positivas
Foto 6. Lector de microplacas Benchmark ERAL DE BIBLIOTECAS 58
Tabla 1. Número de hembras marcadas de Cx. quinquefasciatus recapturadas por día
después de la liberación, en los dos experimentos de marcaje-liberación-recaptura90
Tabla 2. Determinación de los estadios de Sella de las hembras marcadas de Cx.
quinquefasciatus que fueron recapturadas por día, en el municipio de Pesquería,
sitio suburbano cercano a el Área Metropolitana de Monterrey, N. L., México,
durante Junio 200491

Tabla 3. Estimados de la regresión de la tasa de sobrevivencia diaria para Cx.
quinquefasciatus bajo condiciones de campo, en el municipio de Pesquería, N. L.
México, durante Junio 200492
Figura 1. Número de hembras marcadas de Cx. quinquefasciatus, recapturadas por
día post-liberación en los dos estudios de marcaje-liberación-recaptura, en el
municipio de Pesqueria, N. L., México
Foto 1. Contenedor con Cx. quinquefasciatus
Foto 2. Marcaje con polvos fluorescentes
Foto 3. Adhesivo utilizado en las papeletas de las ovitrampas
Foto 4. Ovitrampa pegajosa (aplicación del adhesivo)95
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN Foto 5. Colocación de la ovitrampa pegajosa
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
Foto 6. Mosquito marcado y recapturado en papeleta de ovitrampa96
Tabla 1. Mosquitos Culícidos capturados por los diferentes métodos de captura.
La colecta en los sitios se realizó en los Municipios de Guadalupe, Escobedo
y Pesquería, N. L., México, durante el periodo de Junio 2003-Septiembre 2004.
Los datos se presentan como numero de capturados y porcentaje de capturados122

Tabla 2. Mosquitos Cx. quinque fasciatus capturados por los diferentes metodos de
captura. La colecta se realizó en los Municipios de Guadalupe, Escobedo
y Pesquería, N. L., México. durante el periodo de Junio 2003-Septiembre 2004.
Los datos se presentan como numero de capturados y porcentaje de capturados
totales n= 238123
Table 2 Formaine de managitae continue de carlos Mondainies de Cardelano Frenchedo
Tabla 3. Especies de mosquitos capturados en los Municipios de Guadalupe, Escobedo
y Pesquería, N. L., México, durante el periodo de Junio 2003-Septiembre 2004.
Los datos se presentan como especies
capturadas124
Tabla 4. Resumen de los mosquitos colectados en los Municipios de Guadalupe,
Escobedo y Pesquería, N. L., México, durante Junio del 2003-Septiembre 2004,
que fueron analizados para la detección del VON
Foto 1. Aspirado en Vegetación
Foto 2. Colecta Intradomicilio
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Foto 3. Contenedor de plástico del aspirador motorizado de espalda
Foto 4. Trampa de luz CDC con termo con CO2
Foto 5. Cebo humano con aspirador de baterías
Foto 6. Cebo humano con aspirador bucal



Capitulo 1

Introducción General.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION GENERAL

Culex quinquefasciatus Say, 1823(Figura 1 y 2) es un mosquito que presenta una gran importancia médica, ya que además de las exacerbantes picaduras que inflinge a los humanos, es el vector de una amplia gama de enfermedades alrededor del mundo, entre ellas la filariasis linfática humana y una de las filarias que la produce es Wuchereria bancrofti (Cobbold, 1877); Seurart, 1921. Viven en la fase adulta en vasos linfáticos, produce linfangitis regional y linfadenitis, después causan varices linfáticas, elefantiasis del escroto y de las extremidades, esta enfermedad se distribuye en todas las regiones cálidas del mundo, desde los 41° Norte hasta el 28° Sur en el Hemisferio Oriental, y los 30° Norte a los 30° Sur en el Hemisferio Occidental. En América, en las Costa del Norte de Sudamérica (Noreste de Brasil, las Guyanas y Venezuela) (Beavers et al., 1984).

Karabatsos, (1985) mencionó en su catalogo de Arbovirus que *Cx. quinquefasciatus* es vector en alguna parte del mundo de los siguientes virus: Las encefalitis Equina del Este. Oeste, venezolana y San Luis, además de Chikungunya, Río Ross, Umatilla, Oropouche, Park Hart y el Virus del Oeste del Nilo (VON).

Virus del Oeste del Nilo (VON) (Descripción y Sintomatología)

El virus del Oeste del Nilo es un virus de ARN de cadena sencilla, con sentido positivo y pertenece al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae* (Petersen et al., 2001, Campbell et al., 2002). Pertenece al serocomplejo de la Encefalitis Japonesa (JE) que incluye a Encefalitis del Valle Murray y Encefalitis de San Luis (Petersen et al., 2001). Al igual que los casos en humanos, las primeras aves documentadas como infectadas por el Virus del Oeste del Nilo en el hemisferio occidental fueron identificadas en agosto del 99 en New York. Como en varios brotes en Europa, el principal vector fue identificado como el mosquito ornitofilico *Cx. pipiens* Linnaeus. Más aún, el brote en humanos ocurrió en siete sitios urbanos cercanos a tierras húmedas donde se concentraban aves migratorias, mosquitos ornitofilicos y humanos (RTV, 2000).

La mayoría de las infecciones humanas de VON son moderadas y los sintomas incluyen fiebre, cefalea y dolor muscular; a menudo se presentan erupciones en la piel y ganglios inflamados. Las infecciones más severas pueden presentar cefalea, fiebre alta, rigidez en el cuello, estupor, desorientación, coma, convulsión, debilidad muscular, parálisis y ocasionalmente la muerte (AAM, 2000).

La mayoría de las personas infectadas con el VON no han tenido síntomas o padecen de manifestaciones parecidas a la influenza. Muchos se recuperan completamente y no ven en esta enfermedad un gran peligro para la salud o la vida. La muerte ocurre típicamente entre el 3 - 15% de los casos, sin embargo, el promedio de epidemia hacia este punto indica una tasa de mortalidad exactamente por encima del 10%. Las personas con alto riesgo para la infección aguda y muerte, son los ancianos, los niños y aquellos con un sistema inmunológico deficientes como los pacientes de VIH o los que reciben quimioterapia (PAHO, 2001).

Distribución del VON

El virus del Oeste del Nilo (VON) se aisló por primera vez en 1937 de la sangre periférica de una mujer en el Oeste la provincia del Nilo de Uganda en África Central. Desde entonces se ha reportado al virus del VON en el Norte de África (Egipto, Israel); África Central, Oriental y Sur; Asia (India, Pakistán); Borneo; Europa (Chipre, Francia, Rumania) y el más recientemente en los E.U.A. (Figura 3) Las pruebas para el antícuerpo a VON sugieren que también ha estado presente en Tailandia, las Filipinas, Malasia, Turquía y Albania. Los virus del Nilo Occidental son miembros de la familia Flaviviridae y se relacionan estrechamente a los virus de la encefalitis Japonesa del Viejo Mundo y al virus de la encefalitis San Luis (SLE) del Nuevo Mundo. Además, el VON presenta reacción cruzada con una variedad de pruebas serologicas, incluso el análisis de reducción de neutralización de placas, con la Encefalitis del valle Murray (MVE) y con los virus de Usutu, Kunjin, Kokobera, Stratford y Alfuy. Fue esta reactividad cruzada con los reactivos serológicos de SLE que inicialmente confundió el virus de VON con el de SLE en la Ciudad de New York. Pruebas adicionales que usaron exámenes directos de la

secuencia genética del virus de la ciudad de New York lo que lo identificó como VON y no SLE (PAHO, 2001).

Introducción del VON en América

En América, la primera epidemia que se registró del VON ocurrió en New York al final del verano de 1999. Se notificaron un total de 62 casos con neuropatías y 7 defunciones (Rappole et al., 2000). Además de los casos humanos, ocurrieron epizootias en aves y caballos, los primeros registros de aves infectadas con el VON en el Hemisferio Occidental ocurrieron en el mes de Agosto del 99 (Steele et al., 2000). En estas se encontraron altos índices de mortalidad en aves, principalmente *Corvus brachrhynchos* (Eidson et al., 2001). Después se encontraron mayor mortalidad en aves silvestres y en cautiverio, las cuales coincidieron con el incremento de casos humanos reportados (CDC, 1999 a, CDC, 1999 b). El principal vector en la epidemia de la ciudad de New York, fue identificado como el mosquito ornitofilico *Cx. pipiens* (Nasci et al., 2000). Durante ese año, se presentaron 25 casos de enfermedad neurológica en caballos en New York (Komar, 2000).

Actividad del VON en el periodo 2000 - 2004

En el 2000 se presentaron 21 casos humanos y dos defunciones; además se registró una actividad epizoótica en aves y en los vectores mosquitos en 12 estados (CDC, 2000, Andreadis, et al., 2001, Bernard, et al., 2001, Kulasekera, et al., 2001). Se identificaron 65 casos de VON en caballos con daños neurológicos severos en 7 estados. Por otra parte se confirmó infección por el virus en otros 29 mamíferos; a su vez el VON fue detectado 470 grupos (pools) de mosquitos en 38 condados. En aves se reportaron mas de 4000 aves, pertenecientes a 133 condados de 12 estados (CDC, 2000).

En el 2001 la actividad del VON se reportó en 359 condados de 27 estados: 66 casos humanos en 10 estados; en los 27 estados reportaron actividad del virus en aves (7,333 aves muertas, de las cuales 5,154 fueron cuervos, 966 azulejos y 1,213 aves de otras especies. También realizaron estudios serológicos de más de 6,500 cuervos de los cuales el 53% resultaron positivos. Se reportaron 733 casos equinos en 19 estados. En el caso de

mosquitos de detectó el virus en 919 grupos, pertenecientes a 27 especies (CDC, 2002).

En el año 2002, se registraron 4,156 casos humanos con VON (edad > 50 años), con 284 defunciones. Se reportaron mortalidades en aves por VON de >7,000 cuervos y >5,000 aves de otras especies en 42 estados; 7,333 infecciones en mamíferos (7,320 equinos, 3 en canidos y 10 otras especies) (CDC, 2003a).

En el año 2003 se reportaron un total de 8,563 casos humanos del VON (edad promedio 47 años), con un total de 199 defunciones en 46 estados; en adición 11,350 aves muertas se han registrado positivas al VON en 43 estados, D.C. y New York. Por otro lado, también lo reportaron en 4, 146 caballos, 30 perros, 17 ardillas y 1 gato en 41 estados; en mosquitos lo registraron en 7,725 grupos, en 38 estados, D.C. y New York (CDC, 2003 b). En Texas, la frontera norte de los estados del noreste de México, Tesh, et al., (2004) detectaron durante sus estudios de monitoreo del VON, a 400 grupos de mosquitos positivos a este virus entre Enero del 2003 y Marzo del 2004, en el condado Harris, en Texas y el 95% era de *Cx. quinquefasciatus*.

En el 2004, se registraron 2,313 casos en humanos, con 79 defunciones en 40 estados y en D.C. En aves se encontraron 5,660 corvidos muertos y 1,414 de otras especies de aves positivos al virus, pertenecientes a 46 estados y New York. La infección de este virus se ha encontrado en 37 estados, donde encontraron infectados a 1 murciélago, 9 perros, 7 ardillas, y 14 animales no identificados. En cuanto a mosquitos lo reportaron en 8,263 en 38 estados, D.C. y New York (CDC, 2004).

Vectores del VON en el Mundo

Los mosquitos y garrapatas sirven como los vectores naturales de VON. La mayoría de los virus aislados han sido de los mosquitos, sugiriendo que ellos sirven como los vectores primarios. Cx. univitatus Theobald parece ser el vector principal en África y Cx. pipiens es un vector secundario en África del Sur y puede ser el vector primario en Israel. Los miembros del complejo de Cx. vishnui Theobald son los vectores primarios en India y Pakistán. Las garrapatas infectadas con el VON son los géneros Argos, Hyalomma, y Ornithodoros, que han sido colectadas en África del norte y en Europa oriental.

Los más probables candidatos, sin embargo, son los miembros del complejo de especies de Cx. pipiens. Los miembros de este complejo han sido implicados en los brotes del VON en otras partes del mundo y ellos están entre los mosquitos más comunes en Nueva York durante el verano. Muchas ciudades tienen poblaciones grandes de mosquitos vectores capaces de transmitir este virus. Éstos incluyen Cx. pipiens en la mitad norte del país, su pariente íntimo Cx. quinquefasciatus en el sur, Cx. tarsalis Coquillett en el oeste, y Cx. nigripalpus Theobald en el extremo sur. Estas especies de mosquitos están ciertamente entre las más probables para transmitir VON a los pajaros y humanos y caballos en Norteamérica (Figura 4) (Mullen y Durden, 2002).

Cx. quinquefasciatus como vector del VON

Cx. quinquefasciatus en estudios de laboratorio ha demostrado ser un vector del Virus del Oeste del Nilo eficiente (Turell et al., 2000, Goddard, et al., 2002). Reisen et al., 2004 detectó al VON en grupos (pools) de este mosquito en varias localidades del sur de California, y mencionó que circulaba también en Arizona, EUA y Baja California, México. Las evidencias de la actividad del VON en México han sido documentadas para Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas en caballos y aves durante el periodo del 2002-2003 (Blitvich et al., 2003, Blitvich et al., 2004, Fernández-Salas et al., 2003). El mosquito Cx. quinquefasciatus ha sido reportado para la mayor parte del estado de Nuevo León (Heinemann y Belkin, 1977, Flores-Suárez, 1990, Contreras et al., 1995, Elizondo-Quiroga, 2002).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Conociendo los antecedentes anteriores de circulación del virus, positividad del mosquito en otras áreas de estudio, existe una posibilidad de que esta especie pueda intervenir como vector puente del VON en el estado de Nuevo León; por lo que los objetivos específicos del estudio fueron:

- 1.- Determinar los patrones de alimentación de hospedero de Cx. quinquefasciatus.
- Estimar la duración del ciclo gonotrofico y la tasa de sobrevivencia diaria de Cx. quinquefasciatus.
- 3.- Detección del virus del Oeste del Nilo en el mosquito Cx. quinquefasciatus.

Los dos primeros objetivos son algunos aspectos muy importantes para poder calcular la capacidad vectorial de una especie de mosquito, y el tercero, por otro lado determinó si existieron grupos de mosquitos positivos al VON.

JUSTIFICACION Y ORIGINALIDAD

En agosto de 1999 el VON apareció por primera vez en el hemisferio occidental, en la ciudad de New York y se produjeron 62 casos humanos con 7 fallecimientos y entre 5,000 y 10,000 easos en aves (AAM, 2000). En la ruta de migración Islas del Caribe/Atlántico norte occidental, aproximadamente 70 especies de aves tienen poblaciones que pasan a través de New York y cruzan el atlántico norte o el mar Caribe siguiendo una ruta sur hacia sus tierras de hibernación, en las islas del Caribe o en América del Sur. Esta ruta es elíptica, y las aves siguen una ruta más occidental a través del Golfo de México o junto a la costa occidental en la primavera (RTV, 2000). Además a través de los últimos años (2000-2003) se ha visto que se ha diseminado por todos los Estados Unidos de América, incluyendo Texas, que es un estado fronterizo con Nuevo León (CDC, 2000, 2002, 2003a, 2003b, Tesh, et al., 2004) Por lo que se requiere un estudio de los mosquitos vectores potenciales de este virus, en este caso mosquitos del complejo Cx. pipens, como lo es Cx. quinquefasciatus para detectar la presencia del VON, en los mosquitos de México y se complementara al conocer la preferencia de hospedero, el ciclo gonotrofico y la tasa de sobrevivencia que son algunos aspectos importantes de la bionomía del vector, que no han sido estudiados en México debido a que los esfuerzos que se han realizado van encaminados al control del dengue y la malaria (Mancheno, et al., 2001)

LITERATURA CITADA

- AAM. Boletín No. 143. El virus del Nilo Occidental 2000 http://www.drweb.comar/aam/bol I43/143_11.htm (2002, Enero, 10)
- Andreadis, T. G., J. F. Anderson, & C. R. Vossbrinck. 2001. Mosquito surveillance for West Nile virus in Connecticut, 2000: isolation from *Culex pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius* and *Culiseta melanura*. Emerg. Infect. Dis. 7 (4): 670-674.
- Beaty, B.J and W.C Marquardt. 1996. The Biology of Disease Vectors Press of Colorado. U.S.A. pp 85-97.
- Beavers, P. C. 1984. Clinical Parasitlology. 9th. Edition. Lea & Febiger Philadelphia, U.S.A. pp 350-390
- Bernard, K. A., J. G. Maffei, S. A. Jones, E. B. Kauffman, G. D. Ebel, A. P. Dupuis II, K. A. Ngo, D. C. Nicholas, D. M. Young, P. Y. Shi, V. L. Kulasekera, M. Eidson, D. J. White, W. B. Stone, NY State West Nile virus surveillance team and L. D. Kramer.
 2001. West Nile virus infection in birds and mosquitoes, New York state, 2000. Emerg. Infect. Dis. 7 (4): 679-685
- Blitvich, B. J., I. Fernádez- Salas, J. F. Contreras-Cordero, N. L. Marlenee, J. I. González-Rojas, N. Komar, et al 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Horses, Coahuila State, México. Emerg. Infect. Dis. 9 (7): 853-856.
- Blitvich, B. J., I. Fernández- Salas, J. F. Contreras-Cordero, M. A. Lorono-Pino, N. L. Marlenee, F.J. Díaz, J. I. González-Rojas, N. Obregón-Martinez, J. A. Chiu-García, W. C. Black IV & B. J. Beaty. 2004. Phylogenetic Analysis of West Nile Virus, Nuevo León State, México. Emerg. Infect. Dis. 7: 1314-1317.

- Carpenter, S. J. and W. J. La Casse. 1955. Mosquitoes of Norh America (North of México) University of California Press.
- Centers for Disease Control and Prevention. 1999 a. Update: West-Nile-like viral encephalitis-New York, 1999. MMWR. Wkly Rep. 48: 890-892.
- Centers for Disease Control and Prevention. 1999 b. Outbreak of West-Nile-like viral encephalitis-New York, 1999. MMWR. Wkly Rep. 48: 845-849.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2000 a. Update: West-Nile virus activity-Eastern United States, 2000. MMWR. Wkly Rep. 49: 1044-1047.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2002. West-Nile virus activity-United States, 2001. MMWR. Wkly Rep. 51: 497-501.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2003a. West-Nile virus activity -United States, 2002. MMWR. Wkly Rep. 52: 512-517.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2003b. West-Nile virus activity -United States, 2003. MMWR. Wkly Rep. 52: 1160-1162
- Centers for Disease Control and Prevention. 2004. West-Nile virus activity -United States, 2003. MMWR. Wkly Rep. 53: 1071-1072.
- Contreras, 1995. Listado preeliminar de Fauna Silvestre del estado de Nuevo León, México. Consejo Consultivo Estatal para la Preservación y Fomento de la Flora y Fauna Silvestre de Nuevo León. pp 111-112.
- Eidson, M. N. Komar, F. Sorhage, R. Nelson, T. Talbot, F. Mostashari, et al. 2001. Crow

deaths as a sentinel surveillance system for West Nile virus in the northeastern United States, 1999. Emerg Infect Dis. 7:615-20.

- Fernández- Salas, I., J. F. Contreras-Cordero, B. Blitvich, J. I. González-Rojas, A. Cavazos -Álvarez, N. L. Marlenee, A. Elizondo-Quiroga, M. A. Lorono-Pino, D. J. Gubler, B. C. Cropp, C. H. Calisher & B. J. Beaty. 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Birds, Tamaulipas State, México. Vector Borne Zoonotic Dis. 3: 209-213.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen & T. W. Scott. 2002. Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus. Emerg. Infect. Dis. 12: 1385-1391.
- Elizondo-Quiroga, A. (2002) Taxonomía y Distribución de los Mosquitos (Diptera: Culicidae) de las Regiones Fisiográficas Llanura Costera del Golfo y Sierra Madre Oriental, del Estado de Nuevo León, México. Tesis Profesional inédita. Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. San Nicolas de los Garza, Nuevo León. 111 pp
- Flores-Suarez, A.E. 1990. Contribución al estudio de las Poblaciones y Comunidades Larvarias de mosquitos de Importancia en Salud Pública en el área Metropolitana de Monterrey, N.L. Tesis de Maestría en Entomología Médica. Inédita. Facultad de Ciencias Biologicas, U.A.N.L. San Nicolas de los Garza, Nuevo León. 77pp

DIRECCION GENERAL

- Heinemann, S. And J. N. Belkin. 1977. Collection Records of the Project "Mosquitoes of Middle America". México (MEX, MF, MT, MX). Mosq. Systematic Vol. 9 (4): 483-535
- Karabatsos, N., Editor. 1985. International Catalog of Arboviruses, including certain other Viruses of Vertebrates. Am. Soc. Trop. Med. Hyg. 1-1147 pp
- Knight, K. L. and A. Stone. 1977. A Catalog of the Mosquitoes of the World (Diptera: Culicidae) the Thomás Say Foundation, Entomol. Soc. Amer. Vol. VI, pp 70-156.

- Komar, N. 2000. West Nile viral encephalitis. Rev. Sci. Tech. 19:166-176.
- Kulasekera, V. L., L. Kramer, R. S. Nasci, F. Mostashari, B. Cherry, S. C. Trock, C. Glaser and J. R. Miller. 2001. West nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, 2000. Emerg. Infect. Dis. 7(4): 722-725.
- Mancheno, M., A. Kroeger, J. Ordóñez-González. 2001. No más Problemas de Salud Causados por Insectos. Editorial Pax México.
- Mullen, G. and Durden, 2002. Medical and Veterinary Entomology. Academic Press. pp
- Nasci, R. S., D. J. White, H. Stirling, J. Oliver, T. J. Daniels, R. C. Falco, S. Campbell, W. J. Crans, H. M. Savage, R. S. Lanciotti, C. G. Moore, M. S. Godsey, K. L. Gottfried, & C. J. Mitchell. 2001. West Nile virus isolates from mosquitoes in New York and New Jersey, 1999. Emerg. Infect. Dis. 7(4): 626-630.
- PAHO. 2001. Virus del Nilo Occidental en las Américas 2001 (En Línea) Disponible en: http://www.paho.org/Spanish/sha/be-v2In4-nilo.htm (2002, Enero, 10)
- Rappole, J. H. S. R. Derrickson, & Z. Hubalek. 2000. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. Emerg Infect Dis. 6:319-28.
- Reisen, W. K., H. Lothrop, R. Chiles, M. Madon, C. Cossen, L. Woods, S. Husted, V. Kramer & J. Edman. 2004. West Nile Virus in California. Emerg. Infect. Dis. 10(8): 1369-1377.
- RTV. Virus del Nilo Occidental 2000 http://bvs.sld.cu/uats/rtv_files/rtvl000 (2002, Enero, 10)

- Steele, K. E., M. J. Linn, R. J. Schoepp, N. Komar, T. W. Geisbert, R. M. Manduca, et al. 2000. Pathology of fatal West Nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York city, New York. Vet Pathol. 37: 208-224
- Tesh, R. B., R. Parson, M. Siirin, Y. Randle, C. Sargent, H. Guzman, T. Wuithiranyagool, S. Higgs, D. L. Vanladingham, A. A. Bala, K. Haas, and B. Zerinque. 2004. Year-round West Nile virus activity, Gulf coast region, texas and Louisiana. Emerg. infect. Dis. 10 (9): 1649-1652.

Turell, M. J., M. O'Guinn & J. Oliver. 2000. Potential of New York Mosquitoes to Transmit West Nile Virus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 62: 413-414.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Figura 1. Posición taxonómica y descripción de hembra, macho y larva de Cx. quinquefasciatus Say, 1823

Posición taxonómica de Cx. p. quinquefasciatus

Phyllum: Arthropoda

Clase: Hexapoda (Insecta)

Orden: Diptera

Suborden: Nematocera

Familia: Culicidae

Subfamilia: Culicinae

Tribu: Culicini

Genero: Culex

Especie: pipiens

Subespecie: quinquefasciatus

Publicado por Knigth y Stone, (1973); Beaty y Marquardt, (1996).

Descripción de Cx. p. quinquefasciatus

Hembra adulta: Presenta las bandas básales blancas de los terguitos abdominales ligeramente unidas o enteramente desconectados a los parches laterales. Especies de tamaño mediano. Cabeza: proboscis con escamas obscuras; palpos cortos, obscuros. Occipucio con pocas escamas doradas y escamas bifurcadas erectas en el dorso (escamas bifurcadas de la parte central usualmente blancas, otras café obscuro), con escamas blancas anchas lateralmente. Tórax: Integumento del escudo café: escudo revestido con escamas café doradas curveadas (más toscas que en *Cx. restuans, salinarius y nigripalpus*), más claro en el espacio prescutelar. Escutelo con escamas y setas café en los lóbulos. Pleura con pequeños parches de escamas blancas. Abdomen: Primer terguito con un parche mediano de escamas café-obscuras; manteniéndose los terguitos con escamas obscuras con reflejos azul verde metálico a bronce, con bandas basales de parches laterales de escamas blancas; cada banda redondeada en el margen posterior ampliamente y estrechamente donde se une a los parches laterales. Vientre con escamas blancas, generalmente

con unas pocas escamas de color café. Patas: con escamas obscuras con reflejos bronce a azul-verdoso metálico; superficie superior del fémur y tibia blancos; fémur y tibia apicalmente con escamas blancas. Ala: longitud 3.5 a 4.0 mm, con escamas reducidas y obscuras (Carpenter, 1955).

Macho adulto: Coloración similar a la de la hembra pero tiene las bandas básales blancas de los terguitos abdominales ampliamente unidos a los parches laterales y no muy redondeadas en los márgenes posteriores. Lóbulos del noveno terguito (IXT-L) ampliamente separados, ligeramente elevados cada uno portando varias setas cortas; brazo basal (XS-BA) variable en longitud, pero usualmente representado por una protuberancia corta, Falosoma (Ph) que consiste de dos largas placas esclerotizadas conectados cerca de la base, cada placa con un brazo ventral (Ph-VA) grande, curveado hacia fuera, estrechándose en un punto; el brazo dorsal (PhDA) largo, esbelto, estrecho, redondeando hasta la punta, dirigida posteriormente y cruzando sobre el brazo ventral. La distancia entre los puntos de los brazos ventrales y dorsales es corta. Clasper ausente. Basostilo (Bs) cerca de dos veces y media tan largo como la mitad del tamaño, revestido con numerosas setas, más largo en el aspecto exterior. Lóbulo subapical (S-L) sin división, portando los siguientes apéndices: dos largas y fuertes varillas y una varilla larga y delgada y las puntas ligeramente en forma de gancho. Dos setas fuertes con las puntas ligeramente en forma de gancho. Dos setas fuertes con las puntas un tanto recurvadas; una varilla gruesa, cerca de dos tercios tan larga como las primeras tres varillas, a menudo con la punta un poco en forma de gancho; un largo y ancho filamento; y una seta estrecha y fuerte. Dististilo (Ds) cerca de la mitad del tamaño del Basostilo, portando dos pequeñas setas antes del ápice. Uña (Ds-C) corta y roma (Carpenter, 1955).

Larva: Pelos de la cabeza: Postclipeo 4 corto, sencillo; frontal superior 5 y frontal inferior 6 multiples (5 o más ramificaciones) con púas; preantenal 7 largo, múltiple y con púas. Pelos protoracicos: 1-3 largo, sencillo; 4 mediano, doble 5-6 largo, sencillo; 7 largo y doble. Glabro. Pelo abdominal lateral 6 generalmente múltiple en el segmento I y II, sencillo o doble de III al VI. Peine de ocho segmentos; con numerosas escamas en un parche; escamas individuales en la parte apical y con espiculas subiguales. Índice sifonal de

3.8 a 4.0; sifón con la mitad distal estrecha; pecten de 8 a 12 dientes en un tercio de la base del sifón; Dientes individuales de 1 a 5 dientes toscos en un lado; generalmente con 4 penachos sifonales insertos más allá del pecten (el penacho subapical inserto lateralmente, el penacho apical y subapical usualmente doble o triple, penacho proximal múltiple y con púas débiles. Segmento anal anillado por la silla (silla de montar), pelo lateral sencillo, un poco más corto que la silla; cepillo dorsal bilateral formado de un pelo caudal largo y dos pelos caudales superiores, uno largo y el otro corto; cepillo ventral tan largo, confinado al área del enrejado; branquias de 1 a 1 ½ veces tan grandes como la silla de montar (Carpenter et al, 1955).

Figura 2. Fotografía del mosquito Cx. quinquefasciatus.

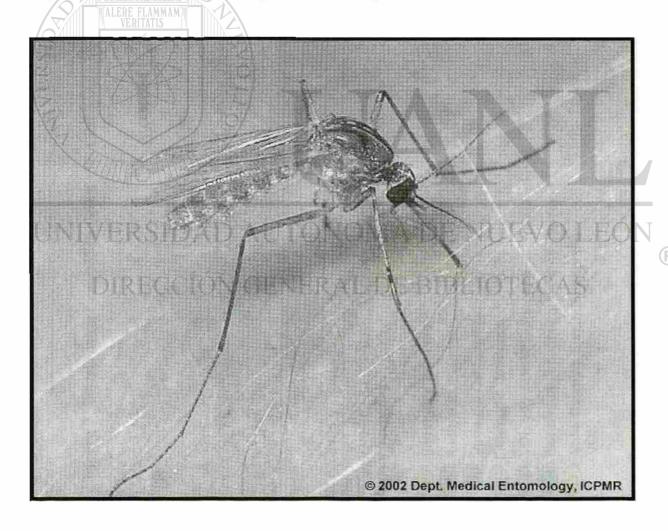
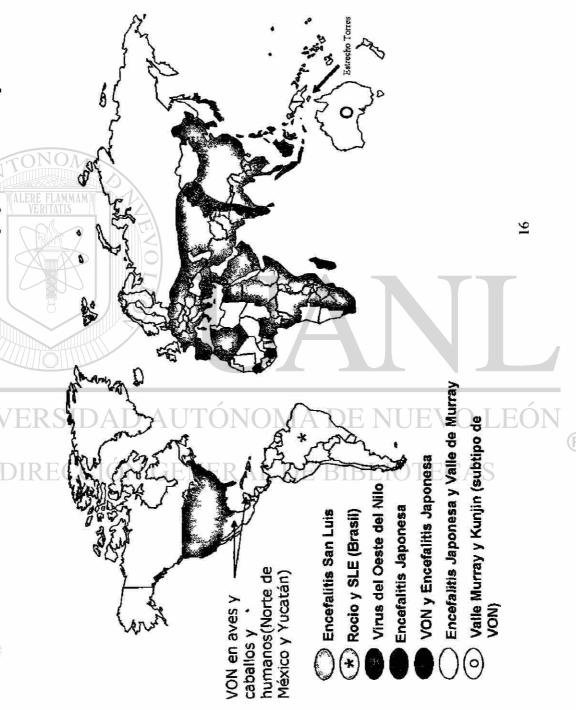
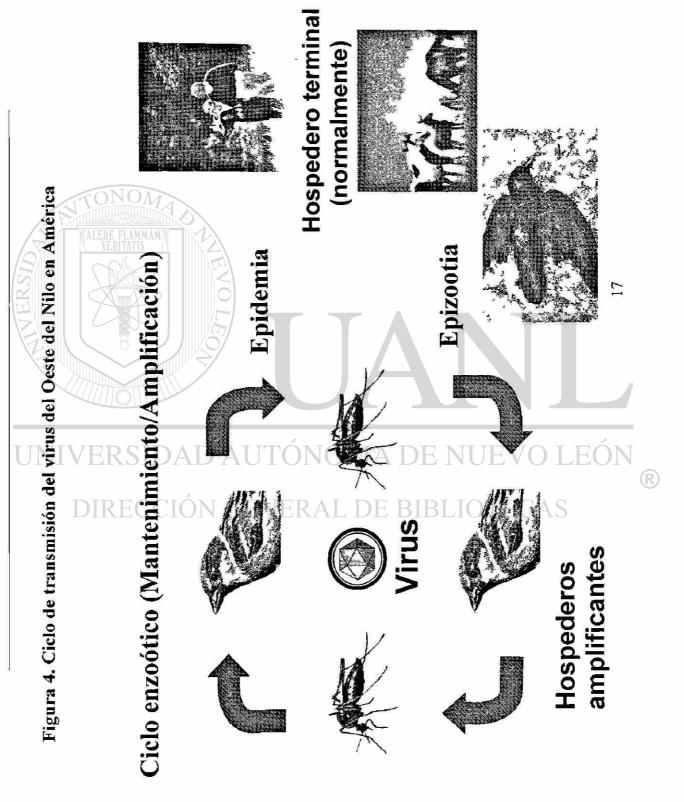


Figura 3. Distribución Geográfica de los virus del Serocomplejo Encefalitis Japonesa







Capitulo 2

Patrones de alimentación de Hospederos de

Cx. quinquefasciatus en Guadalupe y Escobedo, N. L, México

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

Los estudios de preferencias alimenticias de hospederos vertebrados del mosquito Cx. quinquefasciatus se realizaron en los municipios de Guadalupe y Escobedo (municipios del área Metropolitana de Monterrey, México). De las hembras alimentadas a repleción colectadas en casas en las dos localidades, 36.4% y 28.4% contenían sangre humana y 38.7% y 56.7% respectivamente contenían sangre de ave. Humano y pollo fueron las más comunes fuentes de sangre para Cx. quinquefasciatus y estuvieron cerca del 70% de las alimentaciones sanguíneas probadas. El Índice de Sangre Humana (HBI) estimado para Guadalupe y Escobedo fueron de 23.0% y 15.4%, respectivamente. Las tasas de forrajeo (FR) para humanos fueron menores a 1 en ambos sitios y 1.7 y 3.2 respectivamente, para pollo, así otros hospederos vertebrados estuvieron intermedios entre estos valores en los dos sitios de colecta. Debido a esto Cx. quinquefasciatus en el Noreste de México es un importante vector potencial para transmitir El Virus de Oeste del Nilo entre hospederos aves y mamíferos.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

Las fuentes de alimentación sanguínea es el factor más importante para determinar el potencial de una especie para ser vector de enfermedades (Vinogradova, 2000). Así, conociendo las preferencias de hospederos de un vector es un factor determinante para entomólogos médicos y epidemiólogos en la comprensión de las relaciones vector-hospedero y la dinámica de transmisión de enfermedades (Tempelis, 1975, Fernández-Salas, et al., 1993). Los estudios de patrones de selección de hospedero revelaron que en Florida el mosquito *Cx. quinquefasciatus* se alimenta principalmente de aves domesticas y paserinas, además de mamíferos (Edman, 1974).

Cx. quinquefasciatus en estudios de laboratorio ha demostrado ser un vector del Virus del Oeste del Nilo relativamente eficiente (Turell, et al., 2002, Goddard, et al., 2002). VON ha sido detectado en grupos (pools) de este mosquito en California, y debió circular en Arizona, EUA y Baja California, México (Reisen, et al., 2004). Las evidencias de la actividad del VON en México han sido documentadas para Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas en caballos y aves durante el periodo del 2002-2003 (Blitvich, et al., 2003, Blitvich, et al., 2004, Fernández-Salas, et al., 2003).

Para determinar el riesgo potencial de Cx. quinquefasciatus para servir como vector puente entre aves y humanos y otros hospederos mamíferos en el Noreste de México, se condujeron estudios de preferencia de hospederos en dos sitios cerca de Monterrey. Como medida de riesgo de transmisión, las poblaciones locales de Cx. quinquefasciatus fueron muestreadas para determinar la preferencia de alimentaciones sanguíneas, así como el índice de sangre humana (HBI) y las tasas de forrajeo (FR).

El índice de sangre humana se define como la proporción de mosquitos alimentados a repleción con sangre fresca que contienen sangre humana (Garret-Jones, 1964, Fleming, 1986, Service, 1993), y es un componente de la capacidad vectorial (Fleming, 1986). La tasa de forrajeo (FR) cuantifica la selección del vector por un hospedero vertebrado particular (Boreham y Garret-Jones, 1973). Las tasas de

fortajeo son calculadas determinando los porcentajes de hembras que contienen sangre de un hospedero particular, dividido por el porcentaje de la población total de hospederos disponible representada por un hospedero particular (Hess, et al., 1968). Una tasa de fortajeo de uno, indica que no existe selectividad ni a favor ni en contra de un particular hospedero animal; tasa de fortajeo más grande de uno indica selectividad para alimentarse por un hospedero específico y los valores menores de uno indican que evitan alimentarse de un tipo de hospedero.

OBJETIVOS

- 1. Determinar por medio de la técnica de ELISA la identificación de las alimentaciones sanguíneas de Cx. quinquefasciatus.
- 2. Obtener de los resultados el Índice de Sangre Humana (HBI) de Cx. quinquefasciatus.
- 3. Obtener de los resultados la Tasa de Forrajeo (FR). Para determinar la Preferencia de Hospederos de Cx. quinquefasciatus.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GEHIPOTESISDE BIBLIOTECAS

El mosquito Cx. quinquefasciatus se encontrara que es una especie oportunista ya que además de alimentarse de animales, también lo hará de humanos, por lo que es un riesgo de que sirva como vector puente potencial entre el humano y el virus del Oeste del Nilo.

ANTECEDENTES

Búsqueda de Hospedero.

La alimentación sobre hospederos podría ser descrita y analizada en la secuencia de los patrones de comportamiento exhibido por mosquitos que responden hacia un hospedero sobre una distancia. Para cada distancia, la actividad de búsqueda del hospedero es mostrada durante uno o más períodos en el día, sugiriendo que esto es influenciado por el ritmo circadiano (Clements, 1999). En Cx. pipiens el comportamiento de búsqueda de hospedero se controla por la hormona juvenil III, secretada por el corpora allata, este comportamiento se conoce que incluye a los estadios conocidos como activación, orientación, aterrizaje y prueba. La búsqueda de hospedero, es un vuelo dirigido hacia el hospedero por medio de orientaciones visuales y químicas. La identificación química para la localización se basa en la recepción de atrayentes como bióxido de carbono y ácido láctico. La sensilla basiconica de las antenas, consiste de células sensitivas, que se excitan făcilmente por el ácido láctico. En Cx. quinquefasciatus la sensibilidad al bióxido de carbono es mediado por la sensilla basiconica, que se localiza en los palpos maxilares, sin embargo en estudios se ha visto que el olor que producen las manos de un humano atrae mas que el CO2 (Vinogradova, 2000). AUTONOMA DE NUEVO LEO

Índice de Sangre Humana

Los hospederos que prefieren las distintas poblaciones de vectores se han estudiado mediante la medición de la cantidad relativa de mosquitos atraídos hacia el hombre y hacia diferentes animales. En estos estudios, generalmente los hospederos son expuestos en algún tipo de trampa. Aunque tales experimentos pueden indicar la atracción relativa de los mosquitos a los hospederos, estos no proporcionan una evidencia directa de que cantidad de la población del vector se alimenta realmente de los diferentes hospederos en la naturaleza, un factor que no solo varia por la preferencia de un hospedero, sino la disponibilidad del mismo. El método más directo y ampliamente utilizado para medir estos hábitos, consiste

GENERAL DE BIBLIOTECAS

en determinar la fuente de las ingestiones sanguíneas en mosquitos recientemente alimentados, mediante las pruebas serológicas de precipitina o ELISA, entre otros. La sangre de los mosquitos se obtiene por maceración del abdomen del mosquito en papel filtro y se deja secar (Fleming, 1986).

Investigaciones epidemiológicas, especialmente de malaria, han utilizado el índice de sangre humana (HBI), que se ha definido como la proporción (a menudo expresado como porcentaje) de alimentaciones de sangre humana, ingerida por un grupo de vectores específico del total de la población de vectores. Esto expresa la preferencia del contacto de picadura mosquito-humano que muestra una población y en el caso de anofelinos esto es requerido para calcular la tasa de reproducción de malaria. Cuando se uso por primera vez el índice de Sangre Humana algunas veces fue determinado solamente para una parte de la población ya sea, intradomiciliar o peridomiciliar. (Garret-Jones, 1964, Fleming, 1986, Service, 1993, Clements, 1999).

Identificación de la Alimentación Sanguínea

En un inicio las muestras de sangre se identificaban por las pruebas con precipitinas, pero posteriormente se han empleado otras técnicas como la fijación de complemento, aglutinación en látex o en acetato de celulosa, o la inmunoelectroforesis en gel de agarosa; otras técnicas menos usadas son la que emplea oxalato de amonio, esta mezclada con la sangre se deja secar y se montan laminillas y se comparan los cristales de hemoglobina con la de las especies testigo. las de los 80's fueron las ELISAS (directa, indirecta y sándwich); también se han realizado el inmunoblot con antisueros policionales, después están las tiras reactivas que también se basan en una ELISA, también se han utilizado marcar a los hospederos con metales alcalinos como Rubidio y Cesio, para ver la preferencia de alimentación y por ultimo los estudios de ADN (PCR) (Service, 1993).

Prueba de ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

En esta prueba las reacciones antígeno-anticuerpo son monitoreadas enzimaticamente, este método se empezó a utilizar en los 80's para la identificación de alimentación sanguínea (Burkot, et al., 1981).

La técnica se basa en dos ideas: 1. - Uno de los reactivos, antígeno o anticuerpo, es inmovilizado por absorción en una matriz sólida y el reactivo absorbido es usado para capturar anticuerpos o antígenos homólogos de la muestra probada. Una enzima se encuentra unida covalentemente a una globulina de una molécula de inmunoglobulina, produciendo un conjunto que retiene la actividad bioquímica e inmunológica; la exposición de este complejo para un adecuado rendimiento de la reacción y la velocidad de la reacción o la absorbancia final es medida por un espectrofotómetro. La técnica ELISA permite la detección de diminutas trazas de antígeno, esto se lleva a cabo en los hoyos de una microplaca de poliestireno. Las enzimas que son más frecuentemente conjugadas para la molécula de inmunoglobulinas son fosfatasa alcalina y peroxidasa. El análisis de ELISA es llevado a cabo por una de tres diferentes maneras, el directo, el indirecto y el método sándwich. (Clements, 1999).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓI

Generalidades en los Patrones de Alimentación de los Mosquitos

Los mosquitos se alimentan de una gran variedad de animales, dependiendo primordialmente de la preferencia de la especie por un hospedero y la disponibilidad de dichos hospederos. Los hospederos más comunes, además del hombre, son los animales domésticos, como las gallinas, perros, gatos; además de los animales grandes como los caballos y otros equinos, ovejas, cerdos y cabras. En general las especies que se alimentan de animales se denominan zoofilicas, mientras que las que prefieren a humanos se les llaman antropofilicas. Estos términos no son absolutos, es decir que, la mayoría de las

especies se alimentan tanto de animales y en el hombre ven un grado variable; pero las especies de mayor tendencia antropofilica son mejores vectores (Fleming, 1986).

Las hembras de los mosquitos interactúan con sus hospederos vertebrados cuando obtienen la proteína de la alimentación sanguínea que es el esencial para el desarrollo de los ovarios. Los aspectos que se incluyen en el comportamiento de la alimentación de cualquier mosquito son: 1. - La identificación del hospedero de la cual este se alimenta naturalmente. 2. - Determinar si el rango de hospedero es hacia una especie o es amplio. 3. - Determinar las proporciones de estas alimentaciones entre las especies de hospederos en localidades particulares. Los patrones de alimentación de hospedero de una población de mosquitos son influenciados por dos parámetros: 1. - La tendencia innata de los mosquitos para responder a un hospedero en particular. 2. - La disponibilidad del hospedero. El término "preferencia de hospedero" puede ser usado para describir la expresión de las tendencias innatas, pero esta característica es dificil de cuantificar debido a la variabilidad de biomasa del hospedero. Los resultados de algunos estudios sugieren que muy pocas especies de mosquitos, limita su alimentación a una especie de hospedero (Clements, 1999).

La selección de hospederos para la alimentación de sangre, es le principal factor determinante en el potencial de una especie para ser vector de enfermedades. El complejo Cx. pipiens, puede alimentarse de una amplia gama de hospederos incluyendo aves, humanos, cerdos, perros, gatos, reptiles y anfibios, los que los puede definir como un complejo con alimentación general; particularmente las poblaciones difieren en sus especializaciones tróficas; esto se puede deber a las condiciones ambientales, incluyendo patrones climáticos de su hábitat y el estilo de vida del hombre (Vinogradova, 2000).

Investigaciones sobre los Patrones de Alimentación de los Mosquitos

Sasse y Hackett, (1950) concluyeron en sus notas de preferencias de hospedero de Anopheles pseudopunctipennis Theobald, de una aldea malarica en las costas de Perú, que este mosquito prefirió alimentarse de sangre de burro, seguido de otros animales domésticos como puerco y cabra, además la menor selección fue para el hombre; así este mosquito escoge a los animales domésticos para alimentarse aun en la presencia de humanos. Para este trabajo utilizaron para colectar una trampa establo con cebo de cuatro especies de animales y un humano y discutieron que el tamaño o área de exposición de estos animales quizás no tenga mucha importancia ya que deben de ser atraídos los mosquitos por el olor o las emanaciones.

Edman, (1974) describió los patrones de alimentación de cinco especies de mosquitos del genero *Culex* colectados en varios puntos del estado de Florida, usando los ensayos con precipitinas. Para el mosquito *Cx. quinquefasciatus* anotó que lo considera una especie que se alimenta de una amplia gama de hospederos ya que come de aves domesticas y Passerinas, así como de mamíferos, incluyendo al humano.

Edman, (1974b) en la parte IV de los patrones de alimentación en Florida estudio a *Deinocerites cancer* Theobald, empleando la técnica de la precipitina capilarmente y vio que el 75% se alimenta de aves y 24% de mamíferos, principalmente conejos y un 1% de anfibios y reptiles.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Tempelis, (1975) menciono en su articulo resumen de patrones de selección de hospedero de los mosquitos, que Culiseta inornata (Williston) y los Anofelinos se alimentaron casi exclusivamente sobre mamíferos. Cs. melanura (Coquillett) y Cx. peus Speiser, se alimentaron con selectividad de aves. Cx. p. quinquefasciatus se alimentó sobre aves y mamíferos. Cx. territans Walker se alimentó de anfibios exclusivamente. De. dyari Belkin and Hogue se alimentó predominantemente de reptiles pero puede tomar ocasionalmente sangre de algún animal homeotermo. Uranotenia lateralis Ludlow se alimentó de peces. Cx. tarsalis y Cx. nigripalpus se alimentaron de aves en primavera y entrando el verano con un cambio en la alimentación sobre un número significante de mamíferos. Cx. erythrothorax Dyar se alimento sobre mamíferos en un área geográfica y en otra área sobre aves. Todos los resultados anteriores se obtuvieron usando la

prueba de la precipitinas y sus variantes. En Hawaii, menciono que Cx. quinquefasciatus se alimentó casi exclusivamente de aves, pero también se alimentó de perros y bovinos, con un total de alrededor de 31% de alimentación de mamíferos. La fuente de alimentación sanguínea del complejo Cx. pipiens ha sido estudiada en Florida, New York y Minnesota., y se han encontrado diferencias aparentes en los patrones de alimentación y hospederos entre Cx. pipiens y Cx. quinquefasciatus; En Nueva York y Minnesota el 99% de los Cx. pipiens se alimentaron de aves, mientras en Florida el 68.6 % de Cx. quinquefasciatus se alimentaron de ellas. Los Passeriformes sirvieron como el principal hospedero en Minnesota, Anseriformes en Nueva York y pollos en Florida. El complejo de Cx. pipiens ha sido extensivamente estudiado en la India, aqui el punto para este trabajo fue establecer el índice antroposítico para este mosquito en distintas áreas. Ellos en esta última área reportaron un rango en la alimentación de humanos de 21-64%. Su conclusión fue que el hombre fue el hospedero preferencial para Cx. pipiens. Para Cx. p. quinquefasciatus los patrones de alimentación de hospedero varían significativamente de un área a otra. Para los datos de este articulo, se podría concluir que Cx. pipiens prefiere aves y Cx p. quinquefasciatus se alimenta de ambos aves y mamíferos.

Reisen y Boreham, (1979) estudiaron los patrones de selección de hospederos de 18 especies de mosquitos en Pakistan, utilizando la técnica de microprecipitinas para la detección de las alimentaciones de sangre; enfocándose en los vectores de malaria como. An. culicifacies Giles, An. fluviatilis James y An. stephensi Liston y en los probables vectores del VON, Cx. quinquefasciatus y Cx. tritaeniorhynchus Giles. Todas las especies probadas, con la excepción de Cx. quinquefasciatus, fueron consideradas para ser esencialmente zoofilicas. Pocas alimentaciones sobre humanos fueron reportadas par An annularis Van der Wulp (0.7 %), An. culicifacies (0.5%), An. fluviatilis (1.1%), An. nigerrimus Giles (14.3%), y Cx. bitaeniorhynchus Giles (2.8%), mientras que Cx. quinquefasciatus (37.6%) se alimentó de humanos comúnmente y además presentó patrones de alimentación variada dependiendo de la disponibilidad de hospederos; las hembras de esta especie colectadas en las casas se alimentaron más comúnmente de humanos que aquellos que reposaron en corrales de ganado o en campos de agricultura. Cx quinquefasciatus cuando reposo en corrales durante el invierno se alimentó principalmente

sobre aves y bovinos, cambiando a humanos y a bovinos durante la primavera y después a humanos y aves durante el verano.

Burkot, et al., (1981) describió el método de ELISA para determinar las alimentaciones de los mosquitos *Aedes triseriatus* (Say), la técnica fue la ELISA indirecta de microtitulación, los antisueros los prepararon en conejos de Nueva Zelanda y puercos de guinea y los purificaron por precipitación con reacción cruzada de suero sanguíneo, las identificaciones positivas de las fuentes de sangre pudieron ser realizadas utilizando solamente 58µl (3.1%) de sangre ingerida por el mosquito, pero no fue discernible después de las 20 horas post alimentación.

Beier, et al., (1988) identificaron las alimentaciones sanguíneas de An. gambiae Giles y An, funestus Giles en Kenia, por medio de una ELISA directo para determinar las alimentaciones sanguíneas de siete hospederos y la prueba se desarrollo en 4.5 horas, además, las alimentaciones sanguíneas pudieron detectarse después de 32 horas de alimentarse en los mosquitos secos y 23 horas en los mosquitos refrigerados. El 88% de las alimentaciones fueron de humanos, el 4% de ganado vacuno y la mezcla de humanovacuno fue del 2%; adicional a esto probaron que a un mosquito se le podía determinar aparte de la alimentación de sangre por ELISA si portaba los esporozoitos de la malaria por medio de una prueba ELISA. Los autores mencionaron que se han utilizados dos técnicas de ELISA para determinar las alimentaciones de sangre de las hembras de los mosquitos, uno es la ELISA indirecto o técnica sándwich, en la que los antisueros de los hospederos específicos son incubados en los 96 pozos de una placa, las inmunoglobulinas homologas de las muestras de sangre son capturadas por el anti IgG en la placa cubierta, seguido de un lavado para remover el material que no es antigénico, las reacciones especificas son detectados aplicando el conjugado-enzima del anticuerpo que es especifico al hospedero, en el cual el antisuero fue producido y utiliza al sustrato apropiado para desarrollar color. En la ELISA directa se utiliza el anticuerpo conjugado-enzima especifico del hospedero para detectar Ig G homologas en la muestra de sangre, las diferencias primarias entre las dos técnicas son que en la ELISA indirecta se emplea un antisuero para capturar un igG especifico y la ELISA directa utiliza el anticuerpo enzima-conjugado solo para capturar el ig G del hospedero especifico de la muestra de sangre.

Irby y Apperson, (1988) utilizaron ensayos moleculares, empleando antisueros producidos contra las proteínas del suero de los hospederos, esto con la finalidad de identificar la fuente de alimentación de las hembras de 24 especies de mosquitos colectados en su hábitat naturales en los condados de Duplin en Carolina del Norte, durante el periodo de 1984-85. Encontraron que el 91.5% de las muestras se colectaron con aspirador y el 8.5% con trampa de luz (Trampa New Jersey y trampa CDC); por otro lado encontraron que Cx. peccator Dyar y Knab y Cx. territans se alimentaron de anfibios y reptiles, Cx. restuans Theobald y Cx. quinquefasciatus de aves paserinas, pero este ultimo fue la única especie que se alimento además de pollos y pavos, por otro lado las alimentaciones múltiples ocurrieron en una baja proporción (< 0.2%).

Joshi, et al., (1988) usaron inmunoelectroforesis contra corriente (CCIE) y difusión en gel de agarosa para determinar la especificidad por un hospedero, utilizando las alimentaciones sanguíneas en las especies A y B de *An. culicifacies*, de varias localidades de la India. Observaron que ambas técnicas presentaron iguales sensibilidades después de 40 horas post alimentación, sin embargo CCIE fue muy rápido, 25-30 minutos y encontraron que esta especie es altamente zoofagica ya que entre el 94% a 100% se alimentaron de bovinos y entre 0 y 3.5% de humanos, así como el 2.5% fue el máximo de alimentaciones mixtas, esto en todas los sitios de estudio.

Anderson, et al., (1990) utilizaron Rubidio y Cesio como marcadores de la sangre de hospederos (inyección intraperitoneal en pollos) para estudiar las alimentaciones múltiples de mosquitos, entre ellos *Cx. quinquefasciatus*; se inyectaron 2 pollos con Rubidio, 2 con Cesio y 2 controles; se les permitió a los mosquitos que se alimentaran a las 24, 48 y 72 horas posteriores a la inoculación y posteriormente se inhibió la ionización de estos elementos en los mosquitos y se leyó en un espectrofotómetro de absorción atómica a 780nm y 852 nm, y resultó que, el 38% fueron positivos a rubidio, 41% a Cesio y 19% a

ambos. Por lo que la técnica nos permite identificar alimentaciones múltiples.

Savage, et al., (1991) trabajaron con un método para detectar las alimentaciones de sangre humana de *An. albimanus* utilizando un dot-ELISA que permite la identificación de sangre de mosquitos en menos de dos horas, este procedimiento requirió de tiras de papel de nitrocelulosa, estas tiras, se inocularon por anticuerpos de captura antihumanos, después fueron bloqueados, secados y almacenados por tres meses antes de que se usaran, esta tira de ELISA detectó las alimentaciones de humano a 24 horas postalimentación en mosquitos congelados y a 32 horas en muestras de sangre eluídas almacenadas en papel filtro. Este método detecta igG humano a las diluciones de 1: 25,600, pero los resultados positivos contundentes se dieron entre 1:400 y 1: 12,800, este método fue altamente específico y no da falsos positivos cuando se probaron contra sueros de vacas, caballos, cabras, perro, gato, cerdo, conejo, ratón, rata, pollo y mapache.

Sato, et al., (1992) probaron el método de hibridación dot-blot para detectar alimentaciones de sangre humana en Ae. aegypti (Linnaeus) y An. sinensis Chow alimentados a repleción; el DNA con Biotina permite la detección de 10-100ng de DNA humano y discriminó bien entre fuentes de alimentación humanas y no humanas, pero tuvo una reacción cruzada con DNA de mono. Esta técnica demostró que es sensible y especifica para determinar el tipo de alimentación después de 100 horas de ingestión y recomendaron que los marcadores no isótopos ofrecieron un manejo fácil ya que elimina los problemas inherentes al uso de isótopos radiactivos.

Niebylski y Meek, (1992) investigaron también las alimentaciones sanguíneas de Cx. quinquefasciatus que emergen en los estanques residuales, en el medio urbano de Baton Rouge, Lousiana, empleando la prueba de la precipitina en tubos capilares esto con el fin de identificar las fuentes de alimentación sanguíneas de los mosquitos. Analizaron 1263 especimenes y reportaron que los hospederos con mayor preferencia fueron los perros de 64 – 69%, aves Passeriforme 16-18% y humanos 11-15%.

Savage, et al.. (1993) escribió sobre los patrones de alimentación de *Ae. albopictus* (Skuse) en Potosi, Missouri; Utilizaron las pruebas de precipitinas y una ELISA directa, durante 1989 y 1990, el 64% de 172 mosquitos se alimentaron de mamíferos, 16.9% de aves y ninguno se alimentó de tortugas y serpientes, de los mamíferos el 24.5% se alimentaron de conejos; venado (14.5%), perros (13.6%), humano (8.2%), ardilla (7.3%), roedores (3.6%), mapaches (0.9%) y bovinos (0.9%). Muchas alimentaciones positivas de varios mamíferos no fueron detectadas (gato, caballo, ratas y puercos); de aves se alimentó de Passeriformes, Columbiformes, Ciconiiformes. Estos resultados indicaron que este mosquito se alimenta de oportunidad ya que utilizó una amplia variedad de hospederos, la parte del experimento de digestión, indico que las IgG del hospedero específico se pudieron detectar en la sangre después de 24 horas después de alimentarse a 27°C, aun a 30 horas posteriores se mantuvo la identificación en humanos pero no en conejos y a 36 horas bajo la detección en humanos también.

Scott, et al., (1993) sacaron los patrones de alimentación del vector del dengue y Fiebre amarilla Ae. aegypti, en Tailandia, de mayo 1990 a junio de 1991. Utilizando la técnica de ELISA sándwich; el 88% de las alimentaciones fueron de humano, hubo un 7% de alimentaciones múltiples y el humano siempre era uno de los hospederos. La probabilidad de que los mosquitos se alimentaran de humano fue de 0.983 y 0.841 en el primero y segundo año, respectivamente, por otro lado, de que tome alimentaciones múltiples fue de 1.0 y 0.0, respectivamente.

En un estudio del mosquito café(Cx. quinquefasciatus) de las casas para tratar de incriminarlo como un posible vector potencial del virus del Oeste del Nilo en Tucson, Arizona; utilizaron la técnica de ELISA indirecta (sándwich) y encontraron que de las 84 muestras de alimentaciones sanguíneas el 50% de las alimentaciones fueron de humano, el 32% de ave, 12% de perro y menos de 3% de gato; las alimentaciones múltiples fueron 4, dos de humano/ ave, una de perro / ave y una de gato / ave. Esto sugiere que este mosquito

puede ser un vector potencial del VON en esa localidad (Zinser, et al., 2004).

Lozoya- Enríquez, (2004) investigó sobre la implementación de una ELISA para la identificación de las alimentaciones sanguíneas de *Ae. albopictus* y obtuvo la sensibilidad y especificidad de la técnica; la sensibilidad la mostró en 100% cuando las diluciones de la sangre fueron de 1:10 a 1:70, posterior se volvió 0%; la especificidad, para los mosquitos con sangre humana resultó desde 0- 75%, por otro lado detectaron alimentación críptica en 3 mosquitos de humano y perro mezclada y dos con bovino esto en Matamoros, Tamaulipas, mientras que en Reynosa mostraron que contuvieron sangre de humano y otros animales, como el gato y vacas.

Generalidades sobre la Tasa de Forrajeo

En el contexto de biología de mosquitos, la tasa de forrajeo lo introdujo Hess, et al., (1968) es la proporción de las hembras alimentadas de una población de mosquitos que se ha alimentado sobre una especie de hospedero especifico dividido por el porcentaje de la especie de hospedero especifico del numero total de hospederos disponibles en el área bajo consideración; debido a esto un resultado mayor a 1, indica preferencia por el hospedero, valores menores a 1 indican que no existe selectividad por el hospedero (Service, 1993).

En una localidad, la disponibilidad de especies de hospederos potenciales podría tener un mayor efecto sobre los tipos de sangre que es ingerida por población de mosquitos. Es una temprana tentativa para separar el efecto de disponibilidad de hospedero de los muchos diferentes efectos de la atracción de hospederos y la disponibilidad de hospederos, una técnica que desarrollaron los ecologistas pesqueros fue la tasa de forrajeo (Clements, 1999).

Investigaciones sobre la Tasa de Forrajeo

Hess, et al., (1968) describieron el empleo de la técnica de la tasa de forrajeo en el estudio de preferencias de hospederos de los mosquitos, el área de estudio fue en la isla Oahu, Hawwaii, la prueba para determinar las alimentaciones sanguíneas fue utilizando precipitinas, los mosquitos que se muestrearon fueron *Cx. quinquefasciatus* y *Ae. albopictus* y se encontró que la tasa de forrajeo para el primer mosquito fue de 0.9-1.0 en aves y de 0.2 a 1.1 en mamíferos y la segunda especie resultó de 2-9.0 para mamíferos y de 0.1 a 0.8 en aves. De aquí se concluyó que *Ae. albopictus* tuvo preferencias por mamíferos y *Cx. quinquefasciatus* en aves y mamíferos, pero estuvieron mas o menos cerca de 1 por lo que indica que tuvieron selectividad por una amplia gama de animales domésticos. Por ultimo mencionaron que estos estudios no pueden tener una interpretación valida a menos que se tengan bien documentados los datos de números de hospederos disponibles en el sitio de trabajo.

Zimmerman, et al., (1988) publicó los patrones de alimentación de mosquitos en una área rural cercana a la ciudad del Cairo, Egipto, empleando la técnica de precipitinas modificada; capturaron y probaron a 720 Cx. pipiens, 35 Cx. antennatus (Becker), 23 Cx. univittatus, 9 Ae. caspius (Pallas) y 2 An. tenebrosus Doenitz colectados en sitios peridomiciliares cerca de Abu Rawash. De las 1,787 alimentaciones 14% fueron de humanos y 84% de bovinos, ovinos y equinos. Y 0.6% fueron alimentaciones mixtas. Cx. pipiens se alimentó primariamente de ungulados (85.0%), humanos (14.0%) y de aves (0.6%), esta ultima tasa fue baja a pesar de la abundancia de animales domésticos en el área. La tasa de forrajeo para cada especie basado sobre el censo de humanos y corrales, fue bajo para el hombre, por lo que no hay selección hacia el y hubo alta selectividad para bovinos y equinos.

Loyola, et al., (1993) determinaron los patrones de selección de hospederos de An. albimanus Wiedemann en sitios de las planicies costeras de Chiapas, durante la temporada de lluvias; utilizaron la técnica de ELISA directa de Beier et al (1988) modificada por Loyola (1990), esto fue para determinar las fuentes de alimentación; los mosquitos se

colectaron en intradomicilio y peridomicilio. El 19% de los mosquitos los capturaron en peridomicilio y el resto en intradomicilio; él índice de sangre humana oscila entre 0.11 a 0.21 y observaron que esta especie se alimenta mas frecuentemente de bovinos que de otros hospederos, pero la tasa de forrajeo indica que presentó una alta preferencia por equinos, además algunas hembras exhibieron el comportamiento de terminar su ciclo gonotrófico intradomiciliarmente después de alimentarse de animales, pero también se alimentaron de humano y reposaron en peridomicilio. La disponibilidad de hospederos y condiciones ecológicas parecieron ser las responsables de las diferencias observadas en el índice de sangre humana entre las áreas de estudio.

Fernández-Salas, et al., (1993) determino el comportamiento alimenticio de *An.* pseudopunctipennis, así como la tasa de forrajea en áreas cercanas a Tapachula, Chiapas, bajo condiciones de rociado de insecticidas y encontraron que en los dos años del estudio el 53,8 y el 86.1% de todas las hembras alimentadas que reposaban dentro del domicilio contenían sangre humana, los índices de sangre humana variaron de 29.5 a 54.7%. Los humanos y los perros fueron las alimentaciones de sangre más comunes, llegando a contabilizarse cerca del 96% de todas las alimentaciones probadas. La tasa de forrajeo indico una alta selectividad por caballos y puercos y después perro, pero no existió una selectividad por humano ya que fue menor o igual a 1. La atracción por los caballos y puercos discutieron que puede deberse al gran tamaño que presentan estos hospederos (Gran superficie). Por otro lado, no encontraron poblaciones de mosquitos reposando en las paredes de las casas por al menos tres meses después del rociado de DDT.

Gad, et al., (1995) en su investigación de patrones de alimentación de Cx. pipiens y Cx. antennatus de Sharqiya en Egipto (localidad con antecedente la fiebre del Valle Rift). colectaron 8.252 alimentaciones de ambas especies y se analizaron por la prueba de precipitinas. La disponibilidad de hospederos fue estimada por un censo mensual de humanos y la población de animales. Ambas especies de mosquitos exhibieron un comportamiento endofágico y oportunista. En las recamaras, el 79% de Cx. pipiens se alimentó sobre humanos, comparado con 53% de Cx. antennatus. En corrales, 35% de Cx. pipiens y 68% de Cx. antennatus se alimentaron sobre ovejas y cabras. Cx. pipiens

fue principalmente antropofílico (tasa de forrajeo = 2.7), mientras *Cx. antennatus* se alimentó principalmente de ovinos (tasa de forrajeo = 2.4). Estos resultados indicaron que ambas especies probablemente fueron involucradas en la transmisión del virus de la Fiebre del Valle Rift durante la epidemia de 1977 y 1978, en la cual *Cx. pipiens* debió ser el principal responsable para la transmisión a humanos y *Cx. antennatus* para la transmisión de animales domésticos.

MATERIAL Y METODO

Descripción del área de estudio

El área donde se realizó el estudio fue en dos municipios del área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. En las ciudades de Guadalupe (25° 44' N y 100° 16' O) y Escobedo (27° 14' N y 101° 24' O). El clima de esta región puede ser descrito como cálido y semihúmedo, con precipitación limitada, excepto por tormentas fuertes ocasionales. La precipitación promedio anual es de 600 mm y la temperatura promedio anual es de 28° C. Las elevaciones sobre el nivel del mar oscilan entre 450–530 metros. La población de Guadalupe es de 670,162 habitantes y en Escobedo es 233,455. Esto dos municipios presentan áreas urbanas y suburbanas, Los ríos Pesquería y Santa Catarina se encuentran cerca de las áreas de estudio, en las dos ciudades respectivamente y proveen buen hábitat larval (Elizondo- Quiroga, 2002). Los perros, gatos, cerdos y pollos son muy comunes en el área de estudio, mientras los caballos no son muy comunes.

Colecta de Mosquitos

Los mosquitos fueron colectados durante la mañana en sitios de reposo intradomiciliar y peridomiciliar (Foto 1 y 2), por dos semanas durante octubre y noviembre 2003. Cada día, dos colectores buscaron en 15 casas durante un periodo de 4 horas. Se realizó una búsqueda exhaustiva en paredes, techos y muebles utilizando lámparas y para colectarlos se utilizó un aspirador de espalda motorizado. Las colectas peridomicilares se

hicieron en los patios de las casas. Los especimenes recolectados fueron colocados en contenedores de plástico y acarreados al laboratorio donde fueron separados por sexo y se clasificaron las hembras, como alimentadas, sin alimentar y grávidas. Los abdómenes de las hembras recientemente alimentadas a repleción fueron aplanados hasta que mancharan un papel filtro Whatman No. 2 (Foto 3). Los papeles fueron secados y guardados entre papel encerado en bolsas de plástico y almacenados en un refrigerador a 4° C, hasta que se procesaron las muestras para la identificación de alimentaciones sanguíneas. Los humanos y animales domésticos (perros, gatos, pollos, cerdos y caballos) se contabilizaron en cada una de las áreas.

Identificación de Alimentaciones Sanguíneas

Una ELISA directa (enzyme-linked immunosorben assay) descrita por Beier, et al. (1988) y modificada por Loyola, et al. (1990) se utilizó para identificar la fuente de la alimentación de sangre que se encuentra manchando el papel filtro. Las muestras se eluyeron durante la noche a 4 °C con 200 µl de solución amortiguadora de fosfatos salina (PBS, pII 7.2). Cinco microlitros de cada muestra se colocaron en 45 µl de solución amortiguadora de cubrimiento (bicarbonato de sodio 35 mM y carbonato de sodio 15 mM, pH 9.6) en 6 hoyos de la microplaca de poliestireno (Dynatech Laboratories, Inc., Alexandria, VA) (Foto 4) y la incubación fue de una hora a temperatura ambiental. Posteriormente se realizo el bloqueo con una solución de leche descremada 2.5% diluida en PBS pH 7.2 por una hora. Los hoyos fueron tratados con antisuero de cabra antihumano, gato, perro, pollo, cerdo y caballo IgG (H+L) etiquetados con peroxidasa (Kirkegaard y Perry Laboratories. Gaithersburg, MD), para identificar las alimentaciones sanguíneas. El color se desarrolló utilizando 2,2'-azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (Kirkegaard y Perry Laboratories Inc., Gaithersburg, MD.) como substrato incubando por 30 minutos y levendo su absorbancia en un lector de placas con el filtro de 405 nm (Benchmark microplate reader, catalog number 170-6850, Bio-Rad Labs) (Foto 6). Las muestras de sangre de la misma especie hospedero fueron secadas en papel filtro y usadas como controles positivos. La prueba resulta positiva (Foto 5) cuando los valores de absorbancia fueron dos veces más altos que la media de los cinco controles

negativos (consistiendo de hembras no alimentadas de *Cx. quinquefasciatus*). Las alimentaciones de sangre mezcladas, consta de sangre de dos o más hospederos diferentes.

Análisis de Datos

Se calcularon dos parámetros de los datos de las alimentaciones de sangre de Cx. quinquefasciatus. Se estimo el índice de sangre humana (HBI) y fue calculado de los especimenes colectados dentro y fuera de las casas. El índice de sangre humana no ponderado fue calculado de la media no ponderada de la proporción de especimenes con sangre humana (HBP) que fueron colectados en intradomicilo y peridomicilio (HBI no ponderado= [% alimentaciones de sangre humana intradomicilio + alimentaciones de sangre humana peridomicilio % /2)]. Este índice es considerado un estimado imparcial debido a que usa porcentajes en lugar de números. El índice de sangre humana ponderado o media en bruto también fue calculada. Se calculó esta última como la suma de mosquitos hembras capturados intradomicilio y peridomicilio que contiene sangre de un hospedero específico dividido por él número total de mosquitos capturados en intradomicilio y peridomicilio.

La tasa de forrajeo (FR) se calculó determinando el porcentaje de Cx. quinquefasciatus que contiene sangre de un hospedero especifico dividido por el porcentaje del hospedero especifico del total de hospederos disponible de la población (Hess et al. 1968). La prueba de Chi- cuadrada de homogeneidad se calculó para comparar las frecuencias relativas de la muestra (SPSS 10).

RESULTADOS

Colecta de Mosquitos

Un total de 782 (79.3%) de hembras Cx. quinquefasciatus y 203(20.6%) mosquitos machos fueron colectados de todos los tipos de sitios de reposo en las dos comunidades del estudio. En Escobedo solamente 287 (36.7%) especimenes hembras fueron capturadas, mientras 495 (63.2%) fueron obtenidas en Guadalupe. Del total del número de hembras capturadas en ambas localidades, 48.4% (379) se encontraron alimentadas. 34.7% (272) de las hembras capturadas no se encontró alimentadas y 16.7% (131) fueron grávidas (Tabla 1).

Un total de 379 (48.4%) de las hembras fueron procesadas para la identificación de alimentaciones sanguíneas (Tablas 1 y 2). De estos 379 especimenes, 196 (51.7%) se colectaron en intradomicilio, y 183 (48.2%) en peridomicilio. (Tabla 1).

En termino de números de procesados para la identificación de alimentaciones sanguíneas. 67.5% (256) se obtuvieron en Guadalupe y 32.4% (123) de Escobedo. (Tabla 2). No se encontraron diferencias significativas en el numero total de hembras colectadas en intradomicilio y peridomicilio entre las dos ($X^2=11.3$, P<0.01).

Índice de Sangre Humana (HBI) FERFAL DE BIBLIOTECAS

Las hembras capturadas adentro de las casas mostraron una alta proporción de sangre humana en comparación con aquellas colectadas afuera en los patios en ambos sitios. En Guadalupe y Escobedo, 36.4% y 28.4% de los mosquitos colectados en intradomicilio se encontró que contenían sangre humana, mientras 9.4% y 0.0%, respectivamente fueron los resultados obtenidos en peridomicilio para sangre humana (Tabla 2). En Guadalupe se encontró que el 23.0% de los mosquitos contenían sangre humana y en Escobedo fue de 15.5% (Tabla 2).

Los valores de índice de sangre ponderados y no ponderados fueron calculados usando los datos de las colectas de intradomicílio y peridomicílio. La media de HBI ponderada para Guadalupe y Escobedo fueron de 23.0% y 15.4 %, respectivamente (Tabla 3 y 4). Los valores de HBI para los dos sitios no fueron diferentes significativamente ($X^2=3.84$, P<0.05). Los valores de HBI no ponderados fueron ligeramente más bajos que los ponderados, 22.9% para Guadalupe y 14.2% para Escobedo, nuevamente, las diferencias entre estos valores no fue significativo ($X^2=6.63$, P<0.01). Cx. quinquefasciatus fácilmente se alimenta de otros hospederos disponibles. Realmente, la mayoría de las alimentaciones sanguineas fueron de otras especies. Los pollos (aves) fueron el hospedero preferido: 106 (41.4%) y 79 (64%) de los mosquitos colectados en Guadalupe y en Escobedo, respectivamente (Tabla 2). Las diferencias entre los dos sitios no fueron diferentes significativamente ($X^2=6.63$, P<0.01).

Los pollos (aves) fueron la fuente de sangre de 22.4–30.6% de todas las hembras de Cx. quinquefasciatus colectadas en los sitios de reposo peridomiciliar y de 25.2% y 19.3% de las hembras colectadas en el interior de las casas en Guadalupe y Escobedo, respectivamente. Estas tasas nos arrojaron resultados de índices de hospederos altos ya sean ponderados o no ponderados, de 41.4% y 41.5% en Guadalupe y 64.2% y 65.0% en Escobedo, respectivamente (Tabla 3 y 4).

Los índices de sangre de humano-ave fueron de 10.9% (ponderado y 11.0% (no ponderado) en Guadalupe y 0.8 y 0.9 en Escobedo (Tabla 3 y 4). Los índices de sangre de perro fueron de 5.9 y 2.4 en Guadalupe y Escobedo y sus índices no ponderados fueron de 5.9% y 2.3% o respectivamente. Las alimentaciones sanguíneas de cerdo fueron raramente detectadas en las muestras de sangre. Además, las alimentaciones combinadas de sangre se detectaron en 17.9% (68/379) mosquitos (Tabla 3 y 4).

Tasas de Forrajeo (FR)

Los patrones de densidades de hospederos difieren entre los dos sitios de estudio. En Guadalupe los humanos suman el 74.8% de todos los hospederos disponibles, pollos el 12.9% y otros animales el 12.3%; En Escobedo los humanos comprenden 36.3% de los hospederos disponibles, pollos, el 38% y otros animales el 25.7%. Los pollos comprenden 12.9% de los hospederos de Guadalupe pero el 41.4% de las alimentaciones de sangre fueron de pollos y para Escobedo fueron el 38% de los hospederos pero 64% de las alimentaciones sanguíneas. Los pollos (aves) suman mas del 48.8% de las alimentaciones sanguíneas identificadas (Tabla 5 y 6).

Los humanos fueron tres veces más abundantes (74.8%) en Guadalupe que los animales domésticos, pero la tasa de forrajeo para humanos fue de 0.3, lo que revela que las hembras de *Cx. quinquefasciatus* se alimentan mas frecuentemente de pollos (3.2) y otros hospederos disponibles. En Escobedo, el FR para humanos fue de 0.4, el cual fue mas bajo que la FR de pollos (aves) (1.7) y caballos (2.7) (Tabla 5 y 6). La FR para cerdos de Guadalupe fue de 1.3, aunque ellos representaban menos del 1% de los hospederos disponibles. Los FR para perros y gatos fueron menores a 1 en ambos sitios lo que indica que ellos no fueron unos hospederos preferido de todos los hospederos disponibles (Tabla 5 y 6).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DISCUSIONES

El comportamiento alimenticio de Cx. quinquefasciatus podría convertirlo en un vector potencial importante del Virus del Oeste del Nilo en México, pero esto sé esta probando todavía. Cx. quinquefasciatus fácilmente se alimenta de humanos en el Noreste de México (Tabla 2 a 6), pero el vector fue preferentemente zoofilico en la naturaleza.

Realmente, en los dos sitios de estudio, los índices de sangre ponderados y no ponderados para este mosquito reflejan que es un vector ornitofilico relativamente. Las medias de los índices de alimentación de sangre no ponderados fueron ligeramente más altas que los índices de sangre ponderados en las dos localidades (Tabla 3 y 4), probablemente debido al efecto de los porcentajes de especimenes colectados en peridomicilio que se alimentaron de pollo (aves). Por ejemplo, en Guadalupe y Escobedo, 44.1% y 73.2% de las hembras que reposaron en peridomicilio se encontró que tuvieron sangre de pollo (ave), mientras, el 38.8% y 56.7% de las hembras que reposaban en intradomicilio contuvieron sangre de pollo (ave) (Tabla 3 y 4).

Los índices de sangre humana fueron indicadores de un contacto vector-humano regular, bajo condiciones especificas de disponibilidad de hospederos en los sitios de estudio. En contrate, las tasas de forrajeo, las cuales son las medidas de los patrones de selección de hospedero, claramente definen a *Cx. quinquefasciatus* como una especie zoofilica (Tabla 5 y 6).

La tasa de forrajeo para humanos fueron menores a uno, lo que sugiere que estos mosquitos prefieren alimentarse de animales. Las tasas de forrajeo en pollos fue mucho más grande (1.7 y 3.2), lo que sugiere que las aves son los hospederos preferidos de *Cx. quinquefasciatus*. Aunque no eran abundantes en los dos sitios de estudio, los caballos (tasa de forrajeo mayor a 2.7) y cerdos (mayor a 1.3) fueron también atractivos para *Cx. quinquefasciatus*. Estos animales presentan grandes superficies para alimentación en la búsqueda de hospedero de los mosquitos. Los hospederos grandes se conoce que atraen más picaduras de mosquito (Sasse y Hackett, 1950, Fernández-Salas, et al., 1993).

Zimmerman. et al., (1988) en el Cairo, Egipto que la tasa de forrajeo de *Cx. pipiens* basado sobre el censo de humanos y corrales, fue bajo para el hombre, por lo que no hay selección hacia el, fue alto para bovinos y equinos. Pero en Sharqiya, Egipto, Gad, et al., (1995) reportó que *Cx. pipiens* exhibió un comportamiento endofágico y oportunista. En las recamaras, el 79% de los mosquitos se alimentó sobre humanos. En corrales, 35% de *Cx. pipiens* se alimentó sobre ovejas y cabras. Esta especie fue principalmente antropofilica (tasa de forrajeo = 2.7)

La preferencia de alimentarse de aves ha sido documentada para Cx. quinquefasciatus en otras áreas. Tempelis, (1975) mencionó que este mosquito se alimentó casi exclusivamente de aves, pero también se alimentó de perros y bovinos, con un total de alrededor de 31% de alimentación de mamíferos. Hess, et al., (1968) encontró que el 99% de los Cx. quinquefasciatus colectados en Hawai se alimentaron de aves. Zimmerman, et al., (1988) en el Cairo, Egipto encontró que Cx. pipiens se alimentó primariamente de ungulados (\$5.0%), humanos (14.0%) y de aves (0.6%) esta ultima tasa fue baja a pesar de la abundancia de animales domésticos en el área. Irby y Apperson, (1988) reportaron que el 95% de los mosquitos colectados en Carolina del Norte contenían sangre de ave (39% de aves galliformes). Sin embargo en Louisiana, Niebylski y Meek, (1992) encontraron que los perros (69.2%) fue el hospedero mas frecuente para alimentarse de Cx. quinquefasciatus, seguido de aves (16.3%) y humanos (11.1%). En Arizona, Zinser, et al., (2004) encontraron que el 50% de esta especie de mosquito contenía sangre humana, el 32% sangre de ave y el 12% sangre de perro. Esto nos muestra que el medio local y las condiciones ecológicas pueden influenciar las preferencias de alimentación de hospederos de Cx. quinquefasciatus.

Los datos de este estudio revelan un alto grado de ornitofagia y endofilia en *Cx.* quinquefascianus del Noreste de México. De los mosquitos colectados en intradomicilio en Guadalupe 36.4% contenían sangre humana y 38.8% sangre de ave (Tabla 3). Claramente, los mosquitos que se alimentan en peridomicilio reposan en intradomicilio.

Los humanos estuvieron en segundo lugar como fuente de alimentación de esta especie de mosquito (Tabla 2) y fue el hospedero más comúnmente disponible en Guadalupe (Tabla 5 y 6). Los pollos y los humanos comprenden el 64.4 y 79.6% de las alimentaciones de sangre de Sangre de Cx. quinquefasciatus.

Las alimentaciones mixtas se identificaron en el 18% de las alimentaciones de sangre examinadas y de estas el 5% corresponden a la mezcla de humano y ave, además, esos patrones de selección de hospederos revelan una fuerte asociación de este mosquito con el medio domestico y define al domicilio como un sitio de alto riesgo para la transmisión del Virus del Qeste del Nilo.

Mientras los resultados de los dos sitios fueron similares, ellos difirieron en él numero de formas, por ejemplo, él número de mosquitos *Cx. quinquefasciatus* capturados de los sitios de reposo en intradomicilio y peridomicilio es diferente; 32.4% del numero total de hembras alimentadas a repleción fueron de Escobedo y 67.6% de Guadalupe. Esto pudo ser debido a las diferencias en esfuerzos para controlar el Dengue y el VON en las respectivas áreas. Por ejemplo. Los adulticidas es uno de los componentes del manejo integrado de plagas; Aquareslin® (Permetrina, Esbiol y Butoxido de piperonilo) y Bifentrina 1.5% (Ultra Bajo Volumen) son los insecticidas utilizados en el Noreste de México para el control de vectores de enfermedades transmisibles como el dengue y VON NOM-032-SSA2-2002, (2003).

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

En Nuevo León, las densidades de población de *Cx. quinquefasciatus* se incrementan durante la temporada de lluvia (Septiembre-Noviembre) y es cuando comienzan el control de vectores y nuestro estudio se condujo durante ese tiempo. Los cambios en patrones de alimentación y en las densidades del mosquito se podrían esperar en áreas con tratamiento.

Este trabajo sugiere que Cx. quinquefasciatus en Monterrey posee los atributos biológicos y de comportamiento para servir como un vector puente del VON.

CONCLUSIONES

Los índices de sangre humana fueron indicadores de un contacto vector-humano regular, bajo condiciones especificas de disponibilidad de hospederos en los sitios de estudio. En contrate, las tasas de forrajeo, las cuales son las medidas de los patrones de selección de hospedero, claramente definen a *Cx. quinquefasciatus* como una especie zoofilica; ya que las tasa de forrajeo para humanos fueron menores a uno, lo que sugiere que estos mosquitos prefieren alimentarse de animales. Las tasas de forrajeo en pollos fue mucho más grande (1.7 y 3.2), lo que sugiere que las aves son los hospederos preferidos de *Cx. quinquefasciatus*. Aunque no eran abundantes en los dos sitios de estudio, los caballos (tasa de forrajeo mayor a 2.7) y cerdos (mayor a 1.3) fueron también atractivos para *Cx. quinquefasciatus*.

Los datos de este estudio revelan un alto grado de ornitofagia y endofilia en Cx, quinquefasciatus del Noreste de México.

Las alimentaciones mixtas se identificaron en el 18% de las alimentaciones de sangre examinadas y de estas el 5% corresponden a la mezcla de humano y ave.

Este trabajo sugiere que Cx. quinquefasciatus en Monterrey posee los atributos biológicos y de comportamiento para servir como un vector puente del VON. Los mosquitos se alimentan de pollos, humanos y caballos. Además, muchos mosquitos tuvieron múltiples alimentaciones de sangre entre especies de aves y mamíferos. Así que asumimos que Cx. quinquefasciatus de esta área es un vector competente para el VON y servirá como un importante vector de Flavivirus emergentes en México.

REFERENCIAS CITADAS

- Anderson, R. A., J. D. Edman and T. W. Scott. 1990. Rubidium and Cesium as Host Blood-Markers to Study Multiple Blood Feeding by Mosquitoes (Diptera: Culicidae) . J. Med. Entomol. 27: 999- 1001.
- Beier, J. C., Perkins, P. V., Wirtz, R. A., Koros, J., Digss, D., Gargan II, T. P. and D. K. Koech. 1988. Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. J. Med. Entomol. 25: 9-16.
- Blitvich, B. J., I. Fernanadez- Salas, J. F. Contreras-Cordero, N. L. Marlenee, J. I. González-Rojas, N. Komar, et al 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Horses, Coahuila State, México. Emerg. Infect. Dis. 9: 853-856.
- Blitvich, B. J., I. Fernández- Salas, J. F. Contreras-Cordero, M. A. Lorono-Pino, N. L. Marlenee, F.J. Díaz, J. I. González-Rojas, N. Obregón-Martinez, J. A. Chiu-García, W. C. Black IV & B. J. Beaty. 2004. Phylogenetic Analysis of West Nile Virus, Nuevo León State, México. Emerg. Infect. Dis. 7: 1314-1317.
- Boreham, P. F. L. and C. Garrett-Jones. 1973. Prevalence of mixed blood meals and double feeding in a malaria vector (*Anopheles sacharovi* Favre). Bull. W. H. O. 48: 605-614.
- Burkot, T. R., W. G. Goodman and G. R. De Foliart. 1981. Identification of Mosquito Blood Meals by Enzime-Linked Immunosorben Assay. Am. J. Trop. Med. Hyg. 30(6): 1336-1341.
- Clements, A. N. 1999. The Biology of Mosquitoes. Vol. 2 (Sensory reception and Behaviour). CABI Publishing. United Kingdom. pp. 458-539.

- Elizondo-Quiroga, A. 2002. Taxonomía y Distribución de los Mosquitos (Díptera: Culicidae) del estado de Nuevo León, México. Tesis Inédita de Maestría en Entomología Medica, Facultad de Ciencias Biológicas, U. A. N. L.
- Edman, J. D. 1974. Host Feeding Patterns of Florida mosquitoes III. Culex (Culex) and Culex (Neoculex). J. Med. Entomol. 11: 95-104.
- Edman, J.D. 1974 b. Host feeding patterns Florida mosquitoes. IV. Deinocerites. J. Med. Entomol. 11: 105-7.
- Fernández-Salas, I., D. R. Roberts, M. H. Rodríguez, M. C. Rodríguez & C. F. Marina-Fernández. 1993. Host Selection Patterns of Anopheles *pseudopunctipennis* under Insecticide Spraying Situations in Southern México. J. Am. Mosq. Control Assoc. 4: 375-384.
- Fernández- Salas, I., J. F. Contreras-Cordero, B. Blitvich, J. I. González-Rojas, A. Cavazos -Álvarez, N. L. Marlenee, A. Elizondo-Quiroga, M. A. Lorono-Pino, D. J. Gubler, B. C. Cropp, C. H. Calisher & B. J. Beaty. 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Birds, Tamaulipas State, México. Vector Borne Zoonotic Dis. 3: 209-213.
- Fleming, G. 1986. Biology and Ecology of Malaria Vectors in the Americas. J. Med. Entomol. 11: 95-104. Pan American Health Organization. World Health Organization Washington. D. C.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Gad, A. M., I. B. Riad and H. A. Farid. 1995. Host-Feeding Patterns of *Culex pipiens* and *Culex antennatus* (Diptera: Culicidae) from a Village in Sharqiya Governorate, Egypt.
 J. Med. Entomol. 32: 573-577.

- Garrett-Jones, C. 1964. The human blood index of malaria vectors in relation to epidemiological assessment. Bull.W. H.O. 30: 241-261.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen & T. W. Scott. 2002. Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus. Emerg. Infect. Dis. 12: 1385-1391.
- Hess, A. D., R. O. Hayes and C. H. Tempelis. 1968. The use of the forage ratio technique in mosquito host preference studies. Mosq. News 28: 386-389.
- Irby, W. S., and C. S. Apperson, 1988. Hosts of mosquitoes in the Coastal Plain of North Carolina. J. Med. Entomol. 2: 85-93.
- Joshi, H., K. Vasantha, S. K. Subbarao and V. P. Sharma. 1988 Host Feeding Patterns of Anopheles culicifacies species a y b. J. Am. Mosq. Control Assoc. 3: 248-251.
- Loyola, E. G., M. H. Rodríguez, L. González, J. I. Arredondo, D. N. Bown and M. A. Vaca. 1990. Effect of indoor residual spraying of DDT and Bendiocarb on the feeding patterns of An. pseudopunctipennis in México. J. Am. Mosq. Control Assoc. 6: 635-640.
- Lozoya-Enriquez, F. J. 2004. Implementación de la Prueba de ELISA para la Identificación de las Alimentaciones Sanguíneas en *Ae. albopictus*. Tesis Inédita de Maestría en Entomología Medica, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO

- Niebylski, M. L. and C. .L. Meek. 1992. Blood-Feeding Mosquitoes in an Urban Environment. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2: 173-177.
- NOM-032-SSA2-2002. 2003. Norma Oficial Mexicana para la Vigilancia Epidemiológica, Prevención y Control de Enfermedades Transmitidas por Vector. Diario Oficial de la Federación (Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos).

- Reisen, W. K., and P. F. L. Boreham. 1979. Host Selection Patterns of some Pakistan Mosquitoes. Am. J. Med. Trop. Hyg. 28 (2): 408-421.
- Reisen, W. K., H. Lothrop, R. Chiles, M. Madon, C. Cossen, L. Woods, S. Husted, V. Kramer & J. Edman. 2004. West Nile Virus in California. Emerg. Infect. Dis. 8: 1369-1377.
- Sato, C., Y. Furuya, M. Harada and S. Seguir. 1992. Identification of Humand Blood in Mosquitoes (Dipteral: Culicidae) Using Non radioactive DNA Dot Blot Hybridization... J. Med. Entomol. 29: 1045-1047.
- Savage, H. M., J. F. Duncan, D.R. Roberts, and L. L. Sholdt. 1991. A Dipstick ELISA for Rapid Detection of Human Blood Meals in Mosquitoes. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1: 16-23.
- Savage, H. M., M. L. Niebylski, G. C. Smith, C. J. Mitchell and G. B: Craig, Jr. 1993.
 Host-Feeding Patterns of Aedes albopictus (Diptera: Culicidade) at a Temperate
 North American Site. J. Med. Entomol. 30: 27-34...
- Scott, T. W., E. Chow, D. Strickman, P. Kittayapong, R. A. Wirtz, L. H. Lorenz and J. Edman. 1993. Blood- Feeding Patterns of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Collected in a rural Thai Village. J. Med. Entomol. 30: 922-927.
- Sasse, B. E. and L. W. Hackett. 1950. Note on Host Preference of *Anopheles pseudopunctipennis*. J. Nat. Malariol. Soc. 9: 181-182.
- Service, M. W. 1993. Mosquito Ecology (Field Sampling Methods. 2nd edition. Elsevier Science Publishers Ltd. Essex, UK. 461- 468.
- SPSS 10.0.1: Statistics Programs of Social Science. 1999. SPSS, Inc.

- Tempelis, C. H. 1975. Host Feeding Patterns of Mosquitoes, with a Review of Advances in Analysis of Blood Meals by Serology. J. Med. Entomol. 11: 635-653.
- Turell, M. J., M. O'Guinn & J. Oliver. 2000. Potential of New York Mosquitoes to Transmit West Nile Virus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 62: 413-414.
- Vinogradova, E. B. 2000. Culex pipiens pipiens mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Pensoft Publishers, Sofia, Bulgaria. 87-107
- Zimmerman, J.H. and Abbassy, M.M. (1988) Host-feeding Patterns of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a Rural Village Near Cairo, Egypt. J. Med. Entomol; 25, 410-12.
- Zinser, M., F. Ramberg and E. Willott. 2004. *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) as a Potential West Nile Virus Vector in Tucson, Arizona: Blood Meal Analysis. Indicates Feeding on Both Humans and Birds. J. of Insect Science. 4: 20.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 1. Mosquitos Culex quinquefasciatus capturados en intradomicilio y peridomicilio. La colecta en los sitios de reposo se condujo en los Municipios de Guadalupe y Escobedo, N. L., México, durante Octubre-Noviembre 2003. Los datos se presentan como numero de capturados, Analizados para la identificación de las alimentaciones de sangre(Tipo de hospedero), alimentadas, sin alimentar, grávidas y machos.

Localidad		Guadalupe	Escobedo	Total
ATON	Capturados	208	114	322
ALERE FI	% Analizados	62.0	58.7	60.8
Reposo	Alimentadas	129	67	196
Intradomiciliar	Sin alimentar	57	34	91
	grávidas	22	13	35
	Machos	33	21	54

UNIVER	Sapturados Al	JT ₂₈₇ NC	OMA ₁₇₃ DE N	NUEVO LE
DIRE	% Analizados	EN44.2 A	L DE ^{32,3} IBL	IOT32.CAS
Reposo	Alimentadas	127	56	183
peridomiciliar	Sin alimentar	106	75	181
	grávidas	54	42	96
	Machos	82	67	149

Tabla 2. identificación de las alimentaciones sanguíneas del mosquito *Culex*quinquefasciatus capturados en intradomicilio y peridomicilio. La colecta en los sitios

de reposo se condujo en los Municipios de Guadalupe y Escobedo, N. L., México una

sitio urbano del Área Metropolitana de Monterrey,

durante Octubre- Noviembre 2003.

		Mosquitos capturados					
	Guada	lupe T	otal	Escobedo	To	tal	
ospedero	Intrad	Perid p	robado HBF	Intrad Pe	erid pr o	bado H	BP¹
umano TALERE VER	FLAMMAM ITAT 47(36.4)	12(9.4)	1 59 23.0	19(28.4)1	0(0.0)	' 19	15.5
ollo	50	56	106	38	41	79	
lumano-ave	12	16	28	0	1.	1	
Caballo	0	2	2	0	3	3	
'erro	0 2	13	15	3	0	3	
Gato JNIVER Cerdo	RSIDA		UTÓNO	DMA DI	ENU	JEV 1	O L
Otras mezclas	EGCIĆ)N6G]	EN2TERA	L D 4 BII	BISIC	T12	AS
Sin identificar	5	8	13	1	2	3	
	7 7 7			* *		Î ma îma dina s	
Totales	129	127	256	67	56	123	

¹ Proporción de sangre humana de hembras alimentadas que portaron sangre humana,

Tabla 3. Índices de sangre humana ponderados y no ponderados de las alimentaciones de sangre de Humano, Ave, Humano-ave y otros hospederos de *Culex quinquefasciatus* en colectas de intra y peridomicilio. Las colectas se realizaron en el municipio de Guadalupe, N. L., México, durante Octubre-Noviembre 2003.

	% alimentacio	ones sanguineas ¹	:	
			Media	Media
Hospedero	Intradomicilio	Peridomicilio	ponderada²	No ponderada ³
ST	ONOM		X <u>2</u>	*
Humano	36.4 LERE FLAMMAM	9.4	23.0 4	22.9
Ave	38.8	44.1	41.4	41.5
Humano-Ave	9.3	12.6	10.9	11.0
Otros animale	s 15.5	33.9	24.6	24.7
<u> rotal</u>	100(129)	100(127)	100(256)	100(256)
Caballo	0.0	1.6	0.8	0.8
Perro	ERSI <mark>b</mark> AI) A ^{10,2} rón	IOMA DE	NUEVO
Gato	1.6	2.4	2.0	2.0
Cerdo D	IREC _{0.0} IÓI	N GENERA	AL DE RIBI	LIOT _{0.4} CA
Otras mezclas	8.5	12.6	10.5	10.6
Sin identificar	3.9	6.3	5.1	5.1

¹Porcentaje de alimentaciones de sangre por tipo de hospedero. Muestras identificadas por ELISA

²Media ponderada o cruda: (numero con sangre humana en intradomicilio + numero con sangre humana en peridomicilio) / (numero total de alimentaciones en intradomicilio + numero total de alimentaciones en peridomicilio).

³Media no ponderada: (porcentaje con sangre humana en intradomicilio + porcentaje con sangre humana en peridomicilio) / 2
⁴Índice de sangre humana (HBI)

Tabla 4. Índices de sangre humana ponderados y no ponderados de las alimentaciones de sangre de Humano, Ave, Humano-ave y otros hospederos de Culex quinquefasciatus en colectas de intra y peridomicilio. Las colectas se realizaron en el municipio de Escobedo, N. L., México, durante Octubre-Noviembre 2003.

	% alimentacion	es sanguineas'	<u></u>	
			Media	Media
Hospedero	Intradomicilio	Peridomicilio	Ponderada ² N	No ponderada ³
SITC	NOM		2.2	
Humano	28.4	0.0	15.4 4	14.2
Pollo	56.7	73.2	64.2	65.0
Humano-Ave	0.0	1.8	0.8	0.9
Otros animales	14.9	25.0	19.5	20.0
Total	100(67)	100(56)	100(123)	100(123)
Caballo	0.0	5.4	2.4	2.7
Perro IVE	RSIDAD	AU ^{0.0} TÓNO	OMA DE N	UE ^{2,3} O I
Gato	3.0	0.0	1.6	1.5
Cerdo DII	RECGIÓN	GENERA	L DE BJBLI	OTFCAS
Otras mezclas	6.0	14.3	9.8	10.2
Sin identificar	1.5	3.6	2.4	2.6

¹Porcentaje de alimentaciones de sangre por tipo de hospedero. Muestras identificadas por ELISA

²Media ponderada o cruda: (numero con sangre humana en intradomicilio + numero con sangre humana en peridomicilio) / (numero total de alimentaciones en intradomicilio + numero total de alimentaciones en peridomicilio).

³Media no ponderada: (porcentaje con sangre humana en intradomicilio + porcentaje con sangre humana en peridomicilio) / 2

⁴ Índice de sangre humana (HBI)

Tabla 5. Tasa de Forrajeo (FR)¹ estimada para las hembras de *Culex*quinquefasciatus. . Las colectas se realizaron en el municipio de Guadalupe, N. L.,

México, durante Octubre-Noviembre 2003.

	% de población	% de población	% Alimentació	n	
Hospedero	de hospederos²	de hospederos³	de Sangre⁴	FR1,2	FR ^{1,3}
Humano	YONO/74.8	85.9	23.0	0.3	0.3
Pollo	ALERE FLAMMAN 12.9	-,-	41.4	3.2	mg-
Animal ^s	12.3	14.1	35.6	2.9	2.5
<u>Total</u>	100	100	100		\ T
Caballo	0.0	0.0	0.8	0.0	0.0
Perro	7.0	8.0	5.9	0.8	0.7
Gato	5.0	5.7	2.0	0.4	0.4
Cerdo	ERSID _{0.3} .D	AUTÓN	OM.4 D	F _{1.3} N	U.EVO
Tamaño de	muestra 699	N GENERA	256 L DE B	IBLI	OTECA

¹ Tasa de forrajeo = porcentaje de alimentaciones de un hospedero / porcentaje de la población del hospedero.

²La población de pollo incluida.

³ La población de pollo excluida.

⁴ HBI ponderado. ver tabla 3

⁵ Todos los animales, además de las alimentaciones de sangre mezcladas y sin identificar.

276) NOMA DE NUEVO LEÓ!

Tabla 6. Tasa de Forrajeo (FR) estimado para hembras de *Culex quinquefasciatus*.

Las colectas se realizaron en el municipio de Escobedo, N. L., México, durante

Octubre-Noviembre 2003.

	% de población	% de población	% Alimentación		
Hospedero	de hospederos²	de hospederos³	de Sangre⁴	FR ^{1,2}	FR ^{1,3}
Humano	36.3	58.3	15.4	0.4	0.3
Pollo	ONO//38.0	747	64.2	1.7	*.*
Animal ⁵	LERE FLAMMAM 25.7	41.7	20.4	8.0	0.5
Total	100	100	<u>100</u>		
Caballo	0.9	1.4	2.4	2.7	1.7
Perro	8.8	14.1	2.4	0.3	0.2
Gato	6.3	10.1	1.6	0.3	0.2
Cerdo	9.9	16.0	0.8	0.1	0.1

Tamaño de muestra

¹ Tasa de forrajeo = porcentaje de alimentaciones de un hospedero / porcentaje de la población del hospedero.

²La población de pollo incluida.

³ La población de pollo excluida.

⁴ HBI ponderado, ver tabla 3

⁵ Todos los animales, además de las alimentaciones de sangre mezcladas y sin identificar.



Foto 1. Colecta Peridomiciliar (Aspirador motorizado de espalda)

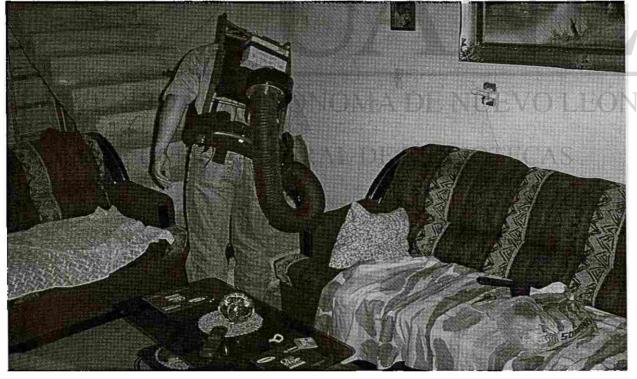


Foto 2. Colecta intradomiciliar (Apirador motorizado de espalda)

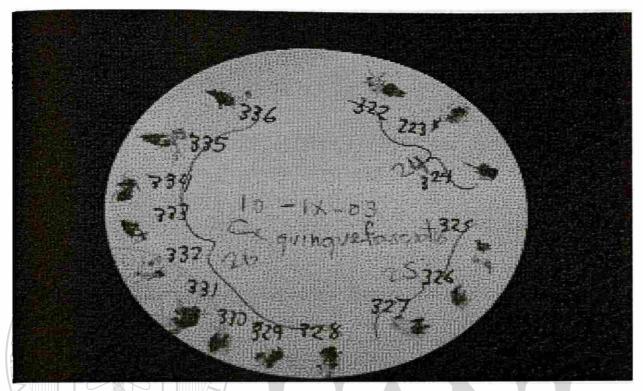


Foto 3. Muestras de sangre en papel filtro Whatman No. 2

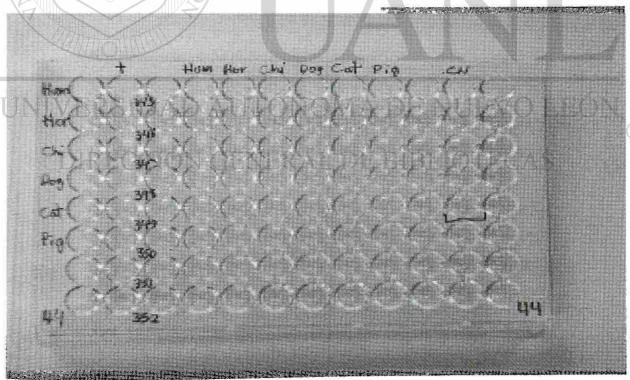


Foto 4. Microplaca etiquetada con número de muestra y controles (+ y -)

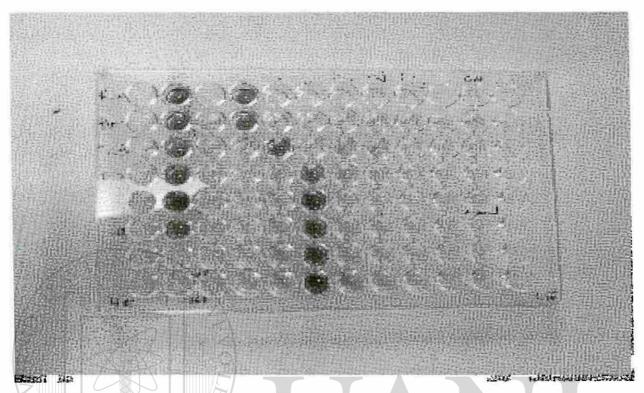


Foto 5. Microplaca con reacciones positivas

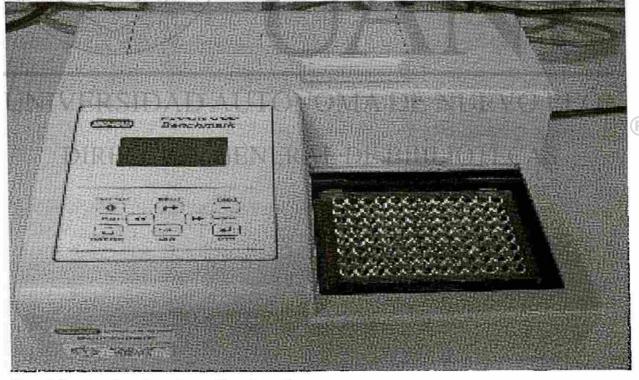


Foto 6. Lector de microplacas Benchmark

Capitulo 3

Estimación de la duración del Ciclo Gonotrofico y Sobrevivencia diaria de Cx. quinquefasciatus (Diptera: Culicidae) en el Noreste

de México.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LA DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

Experimentos de marcaje-liberación-recaptura fueron realizados para determinar la longitud del ciclo gonotrofico y la tasa de sobrevivencia de Culex quinquefasciatus en el municipio de Pesquería, Nuevo León, México durante Junio del 2004. Dos pruebas consecutivas con hembras de campo (silvestres) fueron conducidas del 10 al 25 de Junio. Un total de 2,352 de hembras de Cx. quinquefasciastus silvestres, de 8 a 12 horas postemergencia fueron marcadas y liberadas. Se utilizaron ovitrampas pegajosas para recapturar a las hembras grávidas que iban a ovipositar sus huevos. Un total de 110 (4.6%) de hembras marcadas de Culex fueron recapturadas durante un periodo de muestreo de 12 días. Las tasas de recaptura para cada una de las dos liberaciones fueron de 6.4 y 3.5% respectivamente. La longitud del ciclo gonotrofico para esas hembras fue calculado como el lapso de tiempo (número de días) desde la primera alimentación sanguinea hasta el tiempo de recaptura en el que intentaron oviponer sus huevos. La primera alimentación sanguínea fue documentada a 24 horas post-liberación por medio de hembras recapturadas que mostraron sus abdómenes con sangre roja. Además, un gran pico en el número de hembras grávidas recapturadas, que intentaron oviponer fue anotado después de 3 días (72 horas) post-alimentación. La tasa de sobrevivencia diaria para las hembras colectadas en campo en las dos liberaciones fue estimada en 0.871 y 0.883.

NIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓI

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCIÓN

El Virus del Nilo Occidental (VON) ha sido recientemente introducido en el territorio de México. Se han reportado aves y caballos que fueron infectados a lo largo de la frontera de México y Estados Unidos de América (Blitvich, et al., 2003, Fernández-Salas, et al., 2003). Aunque, no se han incriminado especies de mosquitos como vectores de VON en territorio mexicano, *Cx. quinquefasciatus* se sospecha que interviene como vector principal en la infección de este Flavivirus emergente.

El complejo *Cx. pipiens* ha se le ha relacionado con este virus y su transmisión entre humanos y animales en los recientes brotes de Norte América (Turell, et al., 2000, Nasci, et al., 2001, Kulasekera, et al., 2001). En adición a esto, los estudios en competencia vectorial que se han realizado indican que *Cx. quinquefasciatus* es un vector que es eficiente en laboratorio relativamente (Goddard, et al., 2002). Igualmente, en campo VON ha sido detectado durante el año 2003 en grupos (pool) de esta especie de mosquito en California, (Reisen, et al., 2004).

Por otro lado, la larva de *Cx. quinquefasciatus* puede habitar en lugares urbanos y suburbanos como: márgenes de corriente, contenedores artificiales y naturales con aguas limpias o contaminadas (polisaprobicas) (Vinogradova, 2000, Elizondo-Quiroga, 2002). A pesar de todo lo anterior, los aspectos relacionados a la bionomía de *Cx. quinquefasciatus* y sus relaciones con la transmisión de enfermedades y el control de vectores han sido tratado muy poco en este país. Las principales razones que explican esto es que los programas de control de vectores implementados por el gobierno se han concentrado en los últimos 40 años en especies de vectores que transmiten otras enfermedades como Dengue y Malaria (Mancheno, et al., 2001).

Por ejemplo, la longevidad de una hembra mosquito llega a ser una variable importante de su ciclo de vida, debido a que explica la habilidad de un adulto para incubar y transmitir virus. Similarmente, el ciclo gonotrofico ese encuentra directamente relacionado a la frecuencia en días entre las alimentaciones, por lo tanto las

oportunidades potenciales para adquirir e infectar a los humanos con virus. Ambas cosas, son los mayores componentes del modelo epidemiológico de la capacidad vectorial de mosquitos. Algunos datos conocidos acerca de estas variables provienen de Reisen, et al., (1991), quien estimó la sobrevivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* en 0.84 en California. Igualmente, De Meillon, et al., (1967b) encontró que el ciclo gonotrofico de este mosquito cuando se alimenta antes de 24 horas oviponen dos días después, que es la tercer noche, pero prácticamente, todas las hembras que se alimentaron después de medianoche oviponen a la cuarta noche (72 horas). Estos autores descubrieron que las alimentaciones de azúcar retardan la oviposición (De Meillon, et al., 1967a).

Por otra lado, los métodos para estimar longevidad y el ciclo gonotrofico con mosquitos de campo, han usado exitosamente las técnicas de marcaje-liberación-recaptura (Service, 1993). La combinación de marcaje-liberación-recaptura con ovitrampas pegajosas ha producido muy buenos resultados. Ordoñez-González, et al., (2001) empleó esas dos técnicas en combinación para estimar la dispersión de *Ae. aegypti* en el noreste de México.

Como parte de un proyecto de investigación para empezar a revisar la biología de campo de Cx. quinquefasciatus y también para generar datos para el futuro control de brotes de VON, este estudio propuso dos objetivos: a) Determinar el numero de días para completar el ciclo gonotrofico; y b) Estimar lo longevidad de las hembras de mosquito a través de la tasa de sobrevivencia diaria.

oportunidades potenciales para adquirir e infectar a los humanos con virus. Ambas cosas, son los mayores componentes del modelo epidemiológico de la capacidad vectorial de mosquitos. Algunos datos conocidos acerca de estas variables provienen de Reisen, et al., (1991), quien estimó la sobrevivencia diaria de *Cx. quinquefasciatus* en 0.84 en California. Igualmente, De Meillon, et al., (1967b) encontró que el ciclo gonotrofico de este mosquito cuando se alimenta antes de 24 horas oviponen dos días después, que es la tercer noche, pero prácticamente, todas las hembras que se alimentaron después de medianoche oviponen a la cuarta noche (72 horas). Estos autores descubrieron que las alimentaciones de azúcar retardan la oviposición (De Meillon, et al., 1967a).

Por otra lado, los métodos para estimar longevidad y el ciclo gonotrofico con mosquitos de campo, han usado exitosamente las técnicas de marcaje-liberación-recaptura (Service, 1993). La combinación de marcaje-liberación-recaptura con ovitrampas pegajosas ha producido muy buenos resultados. Ordofiez-González, et al., (2001) empleó esas dos técnicas en combinación para estimar la dispersión de *Ae. aegypti* en el noreste de México.

Como parte de un proyecto de investigación para empezar a revisar la biología de campo de Cx. quinquefasciatus y también para generar datos para el futuro control de brotes de VON, este estudio propuso dos objetivos: a) Determinar el numero de días para completar el ciclo gonotrofico; y b) Estimar lo longevidad de las hembras de mosquito a través de la tasa de sobrevivencia diaria.

OBJETIVOS

- 1.- Determinar el tiempo en días para completar el ciclo gonotrofico de Cx. quinquefasciatus.
- 2.- Determinar la longevidad Cx. quinquefasciatus por medio de la tasa de sobrevivencia diaria.

HIPOTESIS

Se encontrara que la población del mosquito *Cx. quinquefasciatus* presenta una longevidad superior al periodo de incubación extrínseco del Virus del Oeste del Nilo que es de 14 días, además se observará que considerando un ciclo gonotrofico de 72 a 96 horas, para los 14 días el mosquito ya habrá completado 3 a 4 ciclos gonotroficos, lo que es decir oportunidad para infectarse del virus, al alimentarse de hospederos infectados.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ANTECEDENTES

Generalidades sobre ciclos gonotrofico

Dentro de la bionomía de vectores, una fase muy importante es el ciclo gonotrófico, el cual es un proceso fisiológico que consiste en la digestión de la comida sanguínea y desarrollo de los ovarios. En función del tiempo es el período que transcurre entre dos comidas sanguíneas a repleción, con la oviposición previa a la segunda (WHO, 1975), independientemente de si la sangre la toma en una sola comida o durante varias comidas parciales (por interrupción defensiva del hospedero) (Reyes, 1990) y determina la frecuencia del contacto vector-hospedero (Rodríguez, et al., 1992). Si se conoce el ciclo gonotrófico y el porcentaje de preferencia alimenticia hacia el hombre, se puede determinar la probabilidad de que una hembra se alimente por día. Este parámetro es parte de la fórmula para capacidad vectorial, componente entomológico del modelo matemático de la transmisión de la malaria de Tempelis, (1975).

Evaluación de Métodos de Trampeo de Culícidos

Strickman, (1988) utilizó contenedores de oviposición artificial que contuvieron infusión de alfalfa reposado para estimar la tasa de oviposición de *Cx. quinquefasciatus*, en San Antonio, Texas, entre 1981-1984. Las barquillas se encontraron que fueron mas numerosas en los meses de verano, declinan en otoño y se incrementaron en primavera. La temperatura se correlacionó directamente proporcional con la oviposición. La oviposición ceso a 2°C y alcanzó una media de oviposición de 1 barquilla por cada dos trampas, hasta los 8°C y empezó a incrementarse al exceder esta temperatura; la lluvia pesada redujo la oviposición (5 barquillas por trampa), la sequía reduce también el numero de criaderos y el número de hembras que oviponen en las trampas.

Howard, et al., (1989) marcaron y recapturaron a *Cs. melanura* y *Cs. morsitans* (Theobald) en Toad Harbor-Big Bay Swamp, Oswego, New York. Marcaron con polvos fluorescentes y recapturaron en trampas de reposo y trampas de luz CDC con CO2. La tasa

de recaptura fue del 1.02%; la media de las distancias viajadas por las hembras fueron de 4 Km. para la primera especie y 5 Km. para la segunda, estas fueron capturadas en los refugios (trampas) de reposo y para las trampas de luz CDC con CO2 fueron de 9 Km. y 8 Km., respectivamente y sugirieron que estos resultados sostienen la hipótesis, de que estas especies se encuentran en los ciclos del virus de la Encefalitis Equina del Este.

Meyer, (1991) Mostró la eficiencia de las trampas de gravidez y el bióxido de carbono para atraer a *Cx. quinquefasciatus* de Bakersfield, California y encontró que en área urbana y rural, las trampas de gravidez tuvieron los mismos resultados; el número de hembras colectadas por trampas por noches oscilaron entre 6.8 a 15.5. El número de hembras colectadas por las trampas de CO2 se incrementó de 1.4 a 3.1mosquitos por trampa por noche en sitios urbanos, a 31.8 a 111.2 mosquitos por trampa por noche en la zona rural, lo que se correlaciona inversamente proporcional a la densidad de casas, en conclusión las hembras de esta especie fueron muestreadas con efectividad con trampas de gravidez, en áreas urbanas y trampas de CO2 en la parte rural.

Meyer, et al., (1991) estudiaron la influencia de la vegetación sobre la efectividad para capturar mosquitos con trampas de bióxido de carbono, en Sierra Nevada, California. El mosquito *Cx. quinquefasciatus* fue una de las especies que colectaron y se capturo en una tasa de 10 mosquitos por trampa por noche en todos los tipos de vegetación, además, se colectaron principalmente en cielo abierto.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Ordoñez-González, et al., (2001) reportaron el uso de ovitrampas pegajosas para estimar la dispersión de Ae. aegypti en la ciudad de Guadalupe, N. L., México, Primero leberaron hembras de esta especie marcadas y sin alimentar, en campo, en donde previamente habían colocado 100 ovitrampas pegajosas en un área de 300 metros de diámetro y recapturaron el 7.7% de las hembras liberadas en un periodo de 19 días. La dispersión máxima fue de 120 metros, posiblemente esto se debió a las condiciones climáticas calidas y secas, del área de estudio. Además observando el número de recapturas diarias, se pueden observar los primeros dos picos en el número de recapturas en el día 3 y 5, lo que nos puede sugerir que el ciclo gonotrofico de esta especie fue de 48

horas, pero no lo reportaron, porque no fue el objetivo del estudio.

McCardle, et al., (2004) evaluaron cinco sistemas de trampeo para la vigilancia de mosquitos grávidos en Prince Georges, Maryland; los sistemas fueron las trampas de luz CDC miniatura con y sin CO2, Las trampas de gravidez del CDC, jaulas parcialmente abiertas de 1.8 metros cúbicos y trampas Fay-Prince con CO2; de las 14 especies que encontraron 12 de fueron atraídas por luz y CO2, pero la mayoría no estuvieron grávidas, las trampas de gravidez colectaron pocos mosquitos en comparación con las trampas anteriores, pero con un alto porcentaje de gravidez, las jaulas abiertas atraparon a un numero sustancial de mosquitos incluyendo machos y las otras trampas capturaron pocos machos. Cx. pipiens se capturo mas en trampas de luz con CO2, que cada factor por separado; las trampas de gravidez atraparon un gran numero de especies pero la principal fue a Cx. pipiens y Cx. restuans.

Comportamiento de Oviposición de Culex quinquefasciatus y otros Culícidos

De Meillon, et al., (1967 b) investigaron sobre el ciclo de oviposición y tiempo de llegada a oviponer de *Cx. quinquefasciatus* = (pipiens fatigans Wiedemann) y la relación entre el tiempo de alimentación y el tiempo de oviposisción. Encontraron que cuando los adultos de este mosquitos alimentaron antes de 2400 horas, una terceras partes ovipone dos días después, que fue la tercera noche, pero prácticamente, todas las hembras que se alimentaron después de la medianoche ovipusieron a la cuarta noche, con respecto al comportamiento de oviposición observaron que las hembras de varias especies de *Culex*, incluyendo *Cx. pipiens*, oviponen en la noche, y existe un mayor pico de oviposición poco después de la puesta de sol y un pico mas pequeño antes del amanecer, pero concluyeron que esto puede variar con la latitud y la estación del año en la que se encuentren.

Schreiber, et al., (1988) estudiaron la dispersión de Cx. quinquefasciatus en el sur de California. Utilizaron la técnica de marcaje-liberación-recaptura (polvos fluorescentes), se capturaron a las hembras buscando hospedero utilizando trampas con CO₂ (hielo seco) que se acomodaron en linea (1km), de las 1900 a 800 horas. La distancia viajada (MDT) en un intervalo de tiempo la calcularon de acuerdo al procedimiento descrito por Lillie, et

al., (1981). Encontraron que las hembras que buscaban hospedero fueron mas activas una hora antes de la puesta del sol y las distancias viajadas fueron de 0.91km en 12 horas en su primer periodo de vuelo y una distancia acumulativa de 1.27 Km. después de 36 h (en el segundo periodo de vuelo). La tasa de recaptura Cx. quinquefasciatus fue de 0.34% (163) de 47,750.

Weber y Tipping, (1990) en su estudio de comportamiento de pre-oviposición de Cx. pipiens de campo, reportaron que las hembras de esta especie se posan sobre la superficie del agua y el 97.3% de las hembras toman agua de los sitios donde van a ovipositar. La mayoría de los individuos toma mas de una vez (91.9%), además el 81.1% toman el agua por mas de 10 segundos y utilizan en promedio 5 segundos o mas por trago (67.7%). El tiempo total que se utiliza en promedio para esos tragos es de 65.7 segundos. Para finalizar mencionan que el proceso de tomar el agua puede ser en parte para probar el líquido del sitio donde van a ovipositar, pero también sugieren que ingerir el líquido, produce una presión en el abdomen y le ayuda a liberar los huevos.

Beehler, et al., (1993) investigaron los patrones espaciales y circadianos de ovoposición de *Cx. quiquefasciatus* de una población urbana de California, utilizando las ovitrampas desarrolladas por Reiter, que son contenedores de plástico negros, conteniendo cada uno 300 ml de infusión de zacate Bermuda, 750 ml de infusión de heno de alfalfa y 8 litros de agua, los cuales se colocaron 2 horas antes de la puesta del sol, una noche cada mes, las barquillas de *Culex* depositadas fueron contadas y removidas cada 2 horas, a través de la noche, en otra noche los contendedores se colocaron antes de la puesta del sol y las barquillas se recuperaron hasta la mañana siguiente, las cuales se eclosionaron y se llevaron las larvas hasta cuarto estadio para identificación y reultó que el 88% fueron *Cx. quinquefasciatus*, las otras especies encontradas fueron *Cx. stigmatosoma* Dyar 3%, *Cx. tarsalis* 5% y *Cs. incidens* (Thomson) 4%. Con respecto a la periodicidad circadiana el 59% de las barquillas fueron ovipuestas 2 horas después de la puesta de sol y cerca del 80% fueron depositadas en las primeras 4 horas después de la puesta de sol, pero no encontraron ningún pico de oviposición en la mañana para *Cx. quinquefasciatus*. En el análisis espacial no encontraron diferencias significativas en el número de barquillas ovipuestas en los

contenedores lo que sugirió que el hábitat urbano y los factores físicos no tuvieron influencia en la selección de sitos de oviposición de este mosquito.

Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Sobrevivencia en Especies del Género *Culex*

Walter y Hacker, (1974) determinaron la variación en las características de las tablas de vida de tres variedades geográficas de *Cx. quinquefasciatus*; las variedades fueron de Bangkok, Tailandia, Vero Beach, Florida y Houston, Texas. Demostraron que el tiempo de vida medio fue mayor en la cepa de Vero beach con 22.60 días, seguido por la de Houston, 20.18 d y la de Tailandia, 17.57 d y encontraron que solo hubo diferencias en las cepas americanas contra la de Tailandia; en cuanto a la tasa reproductiva la mas baja fue de 16.24, para Bangkok, 48.58, en Vero Beach y 75.45, en Houston. En cuanto al numero de huevos por barquilla estuvieron muy parecidos y oscilaron entre 108.1 y 121 huevos.

Moore, et al., (1986) determinaron la edad cronológica de *Cx. quinquefasciatus* de Memphis, Tennessee, usando la bandas de crecimiento diario de los apodemas toracicos. De los 72 especimenes que tuvieron los apodemas intactos, 13 (32%) fueron menores a dos días de edad, el 55% oscilaron entre tres y cuatro días posteriores a la emergencia, el resto entre cinco y siete días, pero tuvieron muchos problemas con esta técnica ya que en los especimenes jóvenes (menos de 4 días) la presencia de bandas extragruesas, hace difícil la diferenciación y concluyeron que este método es impractico para estudios epidemiológicos.

McHugh, (1990) realizó muestreos diarios de *Cx. tarsalis*, en Placer, California, del 9 al 25 de Julio de 1985 y obtuvo datos de abundancia, estado trofico y paridad; estos fueron analizados por medio de series de tiempo para estimar la sobrevivencia diaria de las hembras alimentadas de sangre, la sobreviva diaria se estimó en 0.84 y la longitud del ciclo gonotrofico en 5 días, para las hembras no alimentadas se estimó en 0.86 y un ciclo de 7 días, esta diferencia lconcluyeron que se debió a la duración del periodo teneral, en el cual las nuevas hembras emergen y copulan antes de buscar hospederos.

Rueda, et al.. (1990) en un estudio en Carolina del Norte examinaron el desarrollo y tasa de sobrevivencia de *Cx. quinquefasciatus* dependiendo de la temperatura y observaron que el tamaño del cuerpo de las poblaciones de *Cx. quinquefasciatus* disminuye a temperaturas altas, así el ancho de la cápsula cefálica en todos los estadios fue mas grande a 15° C que a 30° C, igual en el peso tanto para larva, pupa y adulto fueron mas pesados a 15° C que a temperaturas altas. La sobrevivencia desde la eclosión a emergencia del adulto fue mas alta en el rango de 20 a 30° C (85-90%) y cayó a 15° C (38%) y 34° C (42%)

Reisen, et al., (1991) estudiaron por medio de marcaje-liberación-recaptura con polvos fluorescentes para determinar la dispersión, duración del ciclo gonotrofico y sobrevivencia de varias especies del género *Culex*, en California, durante 1989 y registraron para *Cx. quinquefasciatus* que su tasa de recaptura fue de 4.7% a 15.9% en áreas residenciales y de 3.3 en áreas rurales y su dispersión fue de 1.9 Km. con dirección al Norte, el ciclo gonotrofico fue de 6 días y la sobrevivencia diaria por medio del método de Davidson, (1954) fue de 0.84 y por el método horizontal, que emplea la regresión de las hembras recapturadas resultó en 0.82, además tuvieron diferentes resultados en las recapturas dependiendo el método de muestreo con esta especie, ya que con trampas de luz New Jersey se demostró que no funcionaban, debido a que las hembras no son fototácticas y son repelidas por el brillo de la luz; las trampas con CO2 resultaron efectivas en área rurales, pero no en residenciales, donde las densidades de mosquitos son bajas, en contraste las trampas de gravidez resultaron ser eficientes en sitios residenciales pero no en rurales.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Reisen, et al., (1995) investigaron la bionomía de *Cx. tarsalis* en relación con la transmisión de arbovirus como Encéfalomielitis Equina del Oeste (WEE), Encefalitis de St. Louis (SLE) en el suroeste de California, en el periodo de 1991-1992 y encontraron que la abundancia de hembras fue mayor que en las temporadas de primavera y otoño, antes y después la mayoría de la transmisión viral ocurrió y no se correlacionó, con la temperatura, humedad o lluvias. La tasa de paridad fue más alta durante lo último del verano cuando aumenta la actividad del virus y la más baja es durante diciembre cuando las hembras entran en un corto período de diapausa reproductiva. La proporción de hembras viejas multiparidas con 2 a 3 dilataciones se mantuvo constante todo el tiempo; los cambios en la

tasa de paridad (decrece en Diciembre y se empieza a incrementar de Enero y Febrero) parece estar influenciado por la proporción de hembras una vez paridas. La sobrevivencia estimada desde la tasa de paridad fue mas alta en invierno, pero la proporción de hembras sobrevivientes que trasmiten potencialmente WEE o SLE fue mas alta en verano y empezando otoño. El tamaño de las alas decreció en verano en una correlación inversa a la temperatura y el incremento es una función de la edad de las hembras, lo que implicó que las hembras mas grandes vivieran mas tiempo, pero las hembras autógenas fueron mas grandes que las anautogenas en emergencia y solamente las hembras autógenas paridas las colectaron por medio de selección de hospedero. En competencia vectorial para WEE y SLE, las hembras colectadas por cebo o emergiendo el adulto en campo no tuvieron diferencias significativas entre ellas. La transmisión de los virus progresó eficientemente a mitad del verano cuando las temperaturas elevadas acortan el período extrínseco de incubación y no baja mucho la sobrevivencia y que resultó en un incremento en la proporción de hembras que sobreviven al periodo extrínseco de incubación y llegan a ser infectivas.

Gad, et al., (1995) trabajaron en el desarrollo vitelogenico en mosquitos Cx. pusillus Macquart, autogenicos en Egipto. Colectaron los mosquitos como larvas y los pusieron en contenedores en agua salina (0.9%NaCl), la hembras que emergieron se transfirieron individualmente a tubos de plástico para especimenes llenos a la mitad con agua salina, cada hembra estuvo con dos o tres machos para permitir la inseminación y tuvieron acceso a una solución de 10% de sacarosa, por otro lado las pupas se examinaron para encontrar vitelogenesis. La vitelogenesis se inicio sincronizadamente en mas de 90% de las pupas de 1 día de edad y los folículos primario de las pupas alcanzaron estadios III y IV un día después. Las hembras fueron capaces de ovipositar barquillas autogenicamente, el 88% de las hembras es autógena, 61.3% tuvo dos o tres barquillas y solo el 3.4% ovipositaron cuatro barquillas; el primer ciclo ovárico se completo dos dias de la emergencia. La expresión de la autogenia repetida la confirmaron por la presencia de un número equivalente de dilataciones y la existencia de folículos primarios maduros y folículos secundarios madurando en las mismas ovariolas. Esta especie no tubo ingesta de sangre aún cuando se le ofrecieron varios tipos de cebos.

Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Sobrevivencia en Especies del Género *Anopheles*

Gillies, (1955) investigó sobre el desarrollo de los ovarios en poblaciones naturales de *An. funestus* de Tanganyica y encontró que mas de el 20.7% de las hembras requirieron mas de dos alimentaciones de sangre para que maduraran sus huevos (Pregravidas), de este grupo 34.5% no fueron fértiles y el 73% de fertilizadas fueron nulípara, por lo que se observo que fueron nuevas emergencias, por lo que concluyó que en este mosquito ocurre el desarrollo pregravido, en el cual los ovarios no avanzaron mas allá del estadio II de Christopher.

Gillies, (1961) trabajó en determinar la dispersión y la sobrevivencia de An. gambiae en las colinas de las montañas Usambara, Tanganyica, África; por medio de experimentos de marcaje-liberación, usando la aplicación tópica de pintura y radioisótopos (P y S), en este último las recapturas se reconocieron empleando las autoradiografías, para la recaptura se emplearon hojas de algodón que se colocaban en las superficies horizontales del cuarto y se les aplicaba 0.1% de piretrinas en keroseno. Los adultos se separaron y se les colocó una solución azucarada, los mosquitos liberados fueron de 16-40 horas postemergencia; el rango de dispersión que observó, fue de 0.64 millas en hembras y 0.52 millas en machos, a partir del centro de liberación, pero de las hembras liberadas en la periferia fue de 0.98 millas. Las hembras se recapturaron hasta 23 días post-liberación, la estimación de la sobrevida fue de 0.84, lo que es una perdida diaria de 16% de los individuos.

Mahmood y Reisen, (1981) estimaron la duración del ciclo gonotrofico y la sobrevivencia de An. culicifacies y An. stephensi en la temporada invernal en la provincia de Punjab, Pakistan, la sobrevivencia se obtuvo por los métodos, horizontal (marcaje-liberación-recaptura con polvos fluorescentes) y vertical (usando las tasas de paridad de hembras no marcadas), la recaptura se hizo por cebo y obtuvieron que en los dos primeros ciclos gonotroficos la duración fue inversamente proporcional a la temperatura; a 18° C en la segunda especie mencionada fue de 4.69 a 5.68 días y de 26-28° C fue de 2.27 a 4.37

días; para An culicifacies 26-28° C fue de 2.01 a 4.47 días. La tasa de recaptura osciló entre 7.2% y 8.0% en las dos especies, respectivamente. La tasa de sobrevivencia por el método horizontal fue baja y se lo atribuyeron a la actividad reproductiva y la migración del sitio de estudio, por el otro método dio para An stephensi 0.733.

Mutero y Birley, (1989) registraron en las costas de Kenia, el efecto del desarrollo pregravido de hembras de *An. merus* Doenitz, en la estimación de la tasa de sobrevivencia; mencionaron que al tomar dos comidas sanguíneas antes de la maduración de los huevos altera la estimación de la tasa de sobrevivencia disminuyéndola. Las hembras que obtuvieron el 67% fueron pregravidas, por lo que modificaron el método para estimarla ya no solo tomando en cuenta a las hembras nulípara y paridas, sino también integrando un factor de corrección de la pregravidez, el efecto de la pregravidez cambia la estimación de la sobrevivencia de 0.43 a 0.57 y el ciclo estimado de oviposición fue de 2 días.

Rodriguez, et al., (1992) trabajaron en una localidad del sur de Chiapas a 2.5 Km. de la frontera con Guatemala, obteniendo la sobrevivencia y el ciclo gonotrofico de *An. albimanus*. Emplearon 12 estudios de marcaje-liberación-recaptura, los primeros estudios indicaron que la duración del ciclo era de al menos cuatro días, pero en estudios posteriores, observaron que fueron de 48 horas y los mosquitos retornaron a alimentarse inmediatamente después de oviponer, por medio de la regresión de las recapturas obtuvieron una tasa de sobrevida de (0.46- 0.68) y por medio de las tasas de paridad una de (0.67- 0.69), la probabilidad de que el mosquito pueda transmitir la malaria fue de 2%.

Fernández-Salas, et al., (1993) determinaron la longitud del ciclo gonotrofico y la tasa de sobrevida diaria de An. pseudopunctipennis en poblaciones cercanas a Tapachula, Chiapas, México; emplearon experimentos de marcaje-liberación (polvos fluorescentes), la recaptura se hizo por medio de cebo animal. Entre el 5.4-5.7% de las hembras marcadas se recapturaron, el ciclo gonotrofico tuvo una duración de 3 días en las hembras silvestres y de 4 en los especimenes de insectario, la tasa de sobrevivencia se estimo de 0.875 y 0.884 por la formula de Davidson, (1954) y por el método de regresión fue de 0.690.

Klowden y Briegel, (1994) estudiaron los contrastes entre Anopheles y Aedes, enfocándose sobre el ciclo gonotrofico y las alimentaciones múltiples potenciales. Usaron colonias de laboratorio de Ae. aegypti, Ae. albopictus, An. albimanus, An. freeborni Aitken y An. gambiae, se alimentaron con sangre humana en varias ocasiones, el comportamiento de búsqueda de hospedero lo midieron en un aparato, que en una cámara estaban los mosquitos y en la otra el estimulo de humano, si intentaban ir hacia el estimulo en el tiempo que se prendió el aparato entonces consideraron que buscaban hospedero. Los dos aedinos no buscaron un hospedero después de alimentarse a repleción y esta inhibición duro hasta que ovipositaron, en contraste, antes de la ingestión de sangre los anofelinos responden inmediatamente al estimulo, pero pocos lo hacen después de alimentarse, pero An. gambiae, lo hace en cierta proporción dependiendo el ritmo circadiano.

La Corte, et al., (2002) Hicieron observaciones de laboratorio y campo de An. albitarsis s.l. en Sao Paulo, Brasil, para obtener la longitud del ciclo gonotrofico. Se marcaron los mosquitos de campo con polvos fluorescentes y se liberaron, las recapturas se realizaron por humanos con aspiradores, durante ocho noches consecutivas, los resultados indicaron que hubo concordancia gonotrofica, la tasa de recaptura fue del 2.5%, la duración del ciclo en condiciones de campo fue de 2.4 días y en laboratorio de 4.4 días.

Duración del Ciclo Gonotrofico y Determinación de la Tasa de Sobrevivencia en Especies del Género Aedes

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Porter, et al., (1986) trabajaron en laboratorio al mosquito Ae. triseriatus, para determinar el intervalo de tiempo que existió entre la eclosión, la alimentación sanguínea, la ovoposición y el tiempo de volverse a alimentar; la alimentación fue de roedores lactantes a intervalos de 24 horas, los resultados arrojaron que la media del tiempo desde la eclosión hasta alimentarse fue de 2.6 días (63 horas) y la media del tiempo entre la ovoposición y la segunda alimentación fue de 1.6 días (38 horas), pero con otro grupo de hembras jóvenes fue de 19 horas, lo que indico que esta especie cuando emerge esta lista para alimentarse de sangre varios días antes de ser receptiva a la copula, lo que significa que se alimenta 7 a 8 días antes de poder copular.

Haramis y Woodbridge, (1990) investigaron sobre Ae. triseriatus, de el centro de Ohio, a principios de la década de los 80's, se enfocaron en la determinación del ciclo gonotrofico, trabajaron con marcaje-liberación-recaptura y usaron la paridad de los mosquitos recapturados para estimar la duración del mismo y encontraron que la media del primer ciclo se estimo su longitud en 12 días, esto para hembras que se liberaron después de alimentarse de sangre, pero puede durar 14 días a 22 ° C; la sobrevida se estimó determinando las tasas de paridad de hembras sin marcarse y registraron la tasa de paridad entre 29 y 51% en los últimos tres meses del verano y la sobrevivencia diaria fue de 0.9, la tasa de recaptura fue del 6%.

Eldridge y Reeves, (1990) determinaron la sobrevivencia de Ae. communis (De Geer) (mosquito de charcas de deshielo) de Sierra Nevada en California, empleando la técnica de marcaje-liberación-recaptura y el análisis de regresión linear y obtuvieron que la tasa de sobrevivencia diaria fue de 0.88-0.90, se realizaron múltiples recapturas superiores a 33 días post-liberación, no obtuvieron la longitud del ciclo gonotrofico, sin embargo, por los datos de paridad, basados en disecciones de hembras marcadas y sin marcar, sugirieron que la longitud de ese ciclo debió oscilar entre una y dos semanas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓ DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MATERIALES Y MÉTODO

Área de Estudio

Nuestro sitio de estudio estuvo en el municipio de Pesquería, el cual se encuentra localizado a 30 kilómetros al noreste de la ciudad de Monterrey, en el estado de Nuevo León, México (25° 47′ N y 100° 03′ W) y tiene 11,321 habitantes. Este lugar se encuentra en un área suburbana cercana a cultivos de cereales (maíz, trigo, cebada y avena), se encentra a 400 metros sobre el nivel del mar. El río Pesquería corta esta región y el área de estudio se encuentra localizada en donde los asentamientos humanos se encuentran establecidos a lo largo del río. La vegetación se encuentra representada por matorral submontano y es una planicie (valle aluvial). El promedio de precipitación anual es de 550 mm. El promedio mensual de precipitación durante la temporada de sequía es de 40 mm y es de Junio a Agosto. La temperatura promedio anual es de 28° centígrados. La humedad se mantiene entre 40 y 60%, en la noche prevalecen vientos de menos de 1.15 kilómetros por hora provenientes del Este. Nuestro estudio se realizó durante el periodo comprendido entre el 10 al 25 de Julio del 2004.

Hembras Silvestres Capturadas

Estudios de marcaje-liberación se realizaron durante dos noches consecutivas en Junio del 2004. Se utilizaron cucharones para larvas de mosquito para atrapar larvas de cuarto estadio y pupas de *Cx. quinquefasciatus* en varios criaderos, como las márgenes de corrientes y charcas a lo largo del río y contenedores de 200 litros.

Los estadios inmaduros colectados fueron colocados en charolas de plástico para larvas de 12' x 12', donde posteriormente estas charolas se colocaron en jaulas de tela mosquitera para que volaran y reposaran al emerger los adultos bajo condiciones de campo. Después de la emergencia se separaron las hembras de las jaulas, las cuales se concentraron en contenedores de plástico de 3.8 litros (con un pequeño algodón que contenía solución de azúcar al 10%) (Foto 1).

Posteriormente los mosquitos fueron polveados usando una pipeta Pasteur (Foto 2). Se utilizó para cada una de las noches consecutivas de liberación un color distinto de tinción (amarillo y azul) (Bioquip, Gardena, CA). Las hembras marcadas fueron liberadas en la tarde (1930 h), que fue cuando los mosquitos tenían de 8 a 12 horas de emergencia. La liberación se llevo a cabo en un punto medio de 50 metros entre las 100 ovitrampas pegajosas, cerca del margen del río. Los mosquitos que no fueron capaces de volar fueron eliminados del conteo.

Un periodo de recaptura de doce días fue lo que siguió a cada una de las dos liberaciones. Las ovitrampas pegajosas con infusión de pasto (Foto 4) fueron construidas pensando que las hembras grávidas deben de buscar sitios de oviposición. *Cx. quinquefasciatus* se conoce que pone huevos en barquillas sobre la superficie del agua y prefiere infusión de pasto (Vinogradova, 2000).

Los contenedores de plástico color negro abiertos de 3.8 litros fueron llenados con 2 litros de infusión de pasto, estos contenedores tenían dos proyecciones hacia abajo, que es donde se les coloco una tira de cartoncillo negro delgado de 7 cm. de largo, que sirvió para capturar a las hembras de mosquito cuando intentaban ovipositar ya que este cartoncillo se le aplicó un adhesivo que utilizan para atrapar roedores los operadores de control de plagas (Trapper™ Bell Laboratories Inc., Madison, WI) (Foto 3). Este pegamento fue calentado para que se suavizara y se aplicó con brochas sobre la superficie de la tira de cartoncillo negro. Parea sujetar la tira de cartoncillo se utilizaron sujetadores de papel (clips), esto para evitar que el cartoncillo alcance el nivel del agua ya que el adhesivo pierde sus propiedades al entrar en contacto con el agua (se disuelve el pegamento).

Las trampas fueron colocadas previamente en el área donde los mosquitos fueron liberados (Foto 5). Las hembras grávidas se quedaron pegadas al momento de poner huevos (Foto 6). El muestreo de recapturas se llevó a cabo cada mañana buscando especimenes marcados. Los estadios de Sella los cuales indican los intervalos de digestión sanguínea, fueron anotados para cada hembra recapturada, de esta manera, fuimos capaces

de anotar día tras día la digestión sanguínea, así como conocer cuando los ovarios de las hembras fueron grávidos y listos para oviponer (Detinova, 1962, World Health Organization, 1975).

La longitud del ciclo gonotrofico para esas hembras fue calculado como el lapso de tiempo (numero días) desde la primera alimentación sanguínea (Estadio de Sella II) hasta el tiempo de recaptura en el que intentaron oviponer sus huevos (Estadios de Sella VI y VII), que fue el número mas alto en recapturas (pico) de hembras grávidas recapturadas.

Sobrevivencia

El método empleado para calcular la sobrevivencia diaria o longevidad de las hembras Cx. quinquefasciatus fue el utilizado por Gillies, (1961) para mosquitos anofelinos. En este método, las recapturas diarias fueron transformadas a ln (x + 1) y se hace la regresión en función al tiempo. El antilogaritmo de la pendiente de la línea de regresión fue usado para obtener la sobrevivencia diaria. Un análisis de varianza para la línea de regresión fue calculado para la pendiente de cada una de las series marcadas. Subsecuentemente, las diferencias entre las pendientes de cada serie de marcaje-liberación-recaptura fueron comparadas empleando la ecuación de regresión linear simple (Prueba comparación de dos pendientes) (Zar, 1984). Los estimados de sobrevivencia de las dos series fueron agrupadas al no haber diferencias significativas entre pendientes (Reisen, et al., 1978).

RESULTADOS

Hembras Silvestres Capturadas

En el mes de Junio del 2004, un total de 2,352 hembras de campo de Cx. quinquefasciatus de 8 a 12 horas de emergidas fueron marcadas y liberadas en dos pruebas consecutivas. Un grupo de 110 (4.6%) fueron recapturados después de un periodo de muestreo de 12 días posteriores a la liberación (Tabla 1).

Para poder obtener los mosquitos que se utilizaron para este estudio, un número de 10,300 pupas fueron obtenidas del campo. De los mosquitos del género *Culex* que emergieron como adultos, 7,632 (74.1%) fueron machos y 2,668 (25.9%) hembras (proporción macho-hembra 3:1). La tasa de recaptura para cada una de las dos liberaciones fue de 6.4% y 3.5%, respectivamente.

Un grupo de 17 individuos marcados fueron recapturados durante el día 1 y se observó que se encontraban en el estadio de Sella I, lo que significa que no se habían alimentado aun (Tabla 2). Las evidencias de la primera alimentación sanguínea fueron registradas en el segundo día post-liberación. Diez hembras marcadas fueron encontradas adheridas a las ovitrampas pegajosas y se encontraron el estadio de Sella II, repletas con sangre fresca color rojo. Para el día 3, ocho mosquitos marcados se encontraron medio grávidos (Estadios de Sella III Y IV) fueron encontrados tratando de oviponer. Las hembras marcadas sub grávidas (Estadio de Sella V) fueron capturados en el día 4 post-liberación. El numero mas alto (pico) en recapturas, para cada uno de los dos cohortes liberados fue de 12 y 10 hembras y fueron recapturados en el día quinto post-liberación (tabla 1) y se registraron como grávidas (estadios de Sella VI y VII) (Tabla 2). Para el día 6, un nuevo grupo de mosquitos medio grávidos apareció, 3 recién alimentados y 4 medio grávidos.

Un segundo pico mas pequeño se observo en el día ocho post liberación, en los dos grupos (7 y 8) y en los datos agrupados (Figura 1). Con los datos presentados se asume que

la longitud del ciclo gonotrofico para esas hembras que se calculó como el lapso de tiempo (numero días) desde la primera alimentación sanguínea, hasta el tiempo transcurrido donde se recapturo el numero mas alto (pico) de hembras grávidas de mosquito. Se calculó que el ciclo gonotrofico de *Cx. quinquefasciatus* en el noreste de México es de 3 días o 72 horas.

Sobrevivencia

El método utilizado para estimar la sobrevivencia diaria, utilizando los datos de los estudios de marcaje-liberación-recaptura, nos da la tasa de sobrevida diaria horizontal (Gillies, 1961). Una tasa de sobrevida diaria de 0.877 fue registrada para el coeficiente de regresión de las dos cohortes agrupadas (Tabla 3). La pendiente fue significativamente diferente de 0 (F = 14.851, gl = 1, 10, P < 0.05). Cuando los datos de los dos grupos liberados se analizaron por separado, ambos mostraron patrones lineales. Para el cohorte el 12 de Junio la pendiente fue significativamente diferente de 0 (F = 17.658, gl = 1,10, P < 0.05). Mientras que para el cohorte del 14 de Junio fue (F = 10.070, gl= 1,10, P < 0.05). Además, se encontraron diferencias significativas (t = 3.55, gl = 2,20, P < 0.05) entre las dos pendientes, empleando la comparación de ecuaciones de regresión lineal simple (Zar, 1984).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DISCUSIONES

En los estudios de marcaje-liberación-recaptura, un ciclo gonotrofico de tres días fue documentado consistentemente para las hembras de campo de *Cx. quinquefasciatus*, durante ambas liberaciones (Junio 12 y 14). La temperatura ambiental osciló entre 28 y 33° C, con un solo pico de 34 ° C. La humedad relativa se mantuvo entre 40 y 60% y prevalecieron vientos de 0.15 a 19 metros/ segundo. No se presento ninguna precipitación durante el periodo de la investigación.

Se obtuvieron exitosas recapturas para ambas liberaciones de hembras mosquito de campo y nos dieron distintos resultados, por ejemplo. En la liberación del 12 de Junio se recapturo (6.42%) que fue mayor que la liberación del 14 de Junio (3.55%), pero sus coeficientes de regresión no mostraron diferencias significativas (t = 3.55, gl = 2,20, P < 0.05). Estos datos fueron menores a los reportados por Ordoñez-González, , et al., (2001) quienes recapturaron el 7.7% de los Ae. aegypti liberados, en su estudio de dispersión.

La explicación probable para las tasas bajas en recaptura de mosquitos pudo haber sido originada por factores ambientales, como la temperatura, humedad y velocidad del viento, que prevalecieron en los días de liberación, que pudieron reducir la actividad de vuelo de la población de culícidos liberados. Las diferencias ambientales en las dos liberaciones fueron anotadas; fueron de 2.5° C (31.5 Y 34° C) en temperaturas, 16% (40 y 56%) en humedad relativa y 2.57 m/seg. (0.73 y 3.3 m/seg.) de velocidad del viento, respectivamente entre la primera y segunda fecha de liberación.

Con respecto a la digestión de las alimentaciones de sangre, se observó que el primer estadio de Sella de las hembras recapturadas indica que los mosquitos se alimentan en el segundo día después de la emergencia, lo que es 48 horas después de que fueron marcados y liberados. Sin embargo 22 hembras marcadas presentaron estadios de Sella VI y VII después de 5 días post liberación o lo que es 72 horas después de su primera alimentación de sangre. Por otro lado, un solo mosquito tuvo sus ovariolas grávidas (estadios de Sella VI y VII) al sexto día, este fenómeno pudo haber pasado

considerando que la alimentación de azúcar se ha documentado que retrasa la oviposición, o los mosquitos se alimentaron tarde. (De Meillon, et al., 1967a, 1967b). Se concluye que la mayor parte de las hembras marcadas de *Cx. quinquefasciatus* ovipositaron y trataron de volverse a alimentar, al cuarto día de después de la alimentación (72 horas) bajo condiciones de campo, por ejemplo, la mayoría de las hembras se alimentaron, ovipositaron y regresaron por otra alimentación de sangre en un ciclo de tres días, así reportado por De Meillon, 1967b.

La probabilidad de sobrevivencia diaria obtenida por medio del análisis de regresión fue de 0.871 y 0.883 en cada fecha de liberación. Estos resultados son casi similares a la sobrevida diaria de *Cx. quinquefasciatus* reportados por Reisen, et al., (1991), quienes la estimaron verticalmente por el método de Davidson, (1954) en 0.84 y en 0.82 por el método horizontal, que es el que utiliza la regresión de la recaptura de mosquitos marcados contra la edad en días, esto se realizo en el sur de California. Las diferencias que existen entre las estimaciones de sobrevivencia entre el método vertical de Davidson contra el horizontal de regresión, se han atribuido al favoritismo en el muestreo y las fluctuaciones de la población. Por ejemplo, el método de Davidson muestra que la tasa de sobrevivencia diaria puede ser calculada de la proporción de hembras paridas en la población, pero existen muchas condiciones por considerar. Es decir, el reclutamiento de la población debe de ser constante durante el periodo de muestreo, el porcentaje de los mosquitos paridos se reducirá grandemente, por el incremento en la emergencia de adultos y esto resultaría en una baja estimación de la sobrevivencia. En adición, la situación donde hay pocos nacimientos en comparación de muertos, la tasa de sobrevida será muy alta.

La estimación de la sobrevida basándose en el método de regresión puede ser fuertemente influenciada por la emigración de mosquitos. En el estudio realizado, la declinación diaria en el numero de especimenes marcados fue relativamente constante, lo cual indica que la reducción en la abundancia de la población fue matemáticamente independiente de la edad ($\beta \neq 0$, P < 0.05, prueba de pendiente para homogeneidad). Es conocido que la reducción estable en el número de especimenes marcados excluye cualquier reducción repentina en la abundancia de la población debida a la migración.

Los resultados en la tasa de sobrevivencia de esta investigación pueden ser considerados un factor muy importante en la epidemiología del virus del Oeste del Nilo (VON) y su transmisión por medio de *Cx. quinquefasciatus*. La longevidad de las hembras de mosquito esta ligada al periodo extrínseco de incubación (EIP) del VON (es el periodo en días de vida del vector durante el cual la enfermedad se incuba o se transforma al punto que puede ser transmitido). Se ha encontrado que para mosquitos de campo se necesitan de dos semanas para la incubación del VON. Los resultados de este estudio muestran que en el día 14, la tasa de sobrevivencia diaria de las dos cohortes agrupadas de *Cx. quinquefasciatus* fue de 0.159 (Cerca de 16% de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas) y para el día 21 fue de 0.056 (5.6 % de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas). Además, el día 14 de sobrevida indica el comienzo del cuarto ciclo gonotrofico y la hembra necesita volverse a alimentar, pero ahora con la posibilidad de transmitir el VON a aves, caballos y humanos.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CONCLUSIONES

Se obtuvieron exitosas recapturas para ambas liberaciones de hembras mosquito de campo de *Cx. quinquefasciatus* y se recapturó a 110 (4.7%) especimenes.

Se concluye que la mayor parte de las hembras marcadas de *Cx. quinquefasciatus* ovipositaron y trataron de volverse a alimentar, al cuarto día de después de la alimentación (72 horas) bajo condiciones de campo.

Se encontró que considerando que el para mosquitos de campo se necesitan de dos semanas para la incubación del VON. Los resultados de este estudio muestran que en el día 14, la tasa de sobrevivencia diaria de las dos cohortes agrupadas de *Cx. quinquefasciatus* fue de 0.159 (Cerca de 16% de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas) y para el día 21 fue de 0.056 (5.6 % de hembras sobrevivientes potencialmente infectivas para el VON).

Además, el día 14 de sobrevida indica el comienzo del cuarto ciclo gonotrofico y la hembra necesitará alimentarse, pero ahora con la posibilidad de transmitir el VON a aves, caballos y humanos.

La probabilidad de sobrevivencia diaria obtenida por medio del análisis de regresión fue de 0.871 y 0.883 en cada fecha de liberación.

REFERENCIAS CITADAS

- Beehler, J. W., J. P. Webb and M. S. Mulla. 1993. Spatial and Circadian oviposition patterns in an urban population of *Culex quinquefasciatus*. J. of Am. Mosq. Control Assoc. 9(4): 385-388
- Blitvich, B. J., I. Fernández- Salas, J. F. Contreras-Cordero, N. L. Marlenee, J. I. Gonzalez-Rojas, N. Komar, et al 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Horses, Coahuila State, Mexico. Emerg. Infect. Dis. 9: 853-856.
- Davidson, G. 1954. Estimation of survival rate of anopheline mosquitoes in nature. Nature 174: 792.
- De Meillon, B., A. Sebastian & Z. H. Kahn, Z. H. 1967a. Cane-Sugar Feeding in Culex pipiens fatigans. Bull. Wld. Hlth Org. 36: 67-73
- De Meillon, B., A. Sebastian & Z. H. Kahn, Z. H. 1967b. Time of Arrival of gravid *Culex pipiens fatigans* at an ovipositon cycle and the relationship between time of feeding and time of ovoposition. Bull. Wld. Hlth Org. 36: 163-167.
- Detinova, T. S. 1962. Age-grouping methods in Diptera of medical importance. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Elizondo-Quiroga, A. 2002. Taxonomía y Distribución de los Mosquitos (Diptera: Culicidae) de Nuevo León, México. Tesis inedita de Maestria en Entomología Médica, Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. San Nicolas de los Garza, Nuevo León.
- Eldridge, B. F.& W. C. Reeves. 1990. Daily Survivorship of Adult Aedes communis in a High Mountain Environment in California. J of Am. Mosq. Control Assoc. 6(4): 662-666.

- Fernández- Salas, I., J. F. Contreras-Cordero, B. Blitvich, J. I. Gonzalez-Rojas, A. Cavazos -Alvarez, N. L. Marlenee, A. Elizondo-Quiroga, M. A. Lorono-Pino, D. J. Gubler, B. C. Cropp, C. H. Calisher & B. J. Beaty. 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Birds, Tamaulipas State, Mexico. Vector Borne Zoonotic Dis. 3: 209-213.
- Fernández-Salas, I., M. H. Rodriguez & D. R. Roberts. 1994. Gonotrophic Cycle and Survivorship of *Anopheles pseudopunctipennis* (Diptera: Culicidae) in the Tapachila Foothills of Southern Mexico. J. Med. Entomol. 31: 340-347.
- Gad, A.M., A.N. Hassan and H.A.Farid 1995 preimaginal vitellogenic development and repeated autogeny in Culex pusillus (Diptera:Culicidae) from Egypt. J. Med. Entomol. 32(3): 384-386.
- Gillies, M. T. 1955. The Pre-Gravid Phase of Ovarian Development in *Anopheles funestus*.

 Ann. Trop. Med. Parasit, 49: 320- 325.
- Gillies, M. T. 1961. Studies on the dispersion and survival of *Anopheles gambiae* in East

 Africa, by means of marking and release experiments. Bull. Entomol. Res. 52: 99
 1127. FR SID AD ALITON ADENIES.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen & T. W. Scott. 2002. Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus. Emerg. Infect. Dis. 12: 1385-1391.
- Haramis, L. D. and W. A. Foster. 1990. Gonotrophic cycle duration, Population Age Structure, and Onset of sugar feeding and Insemination of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 27(4): 421-428.
- Howard, J. J., D. J. White, & S. L. Muller. 1989. Mark-Recapture studies on the *Culiseta* (Diptera: Culicidae) Vectors of Eastern equine Encephalitis Virus. J. Med. Entomol. 26: 190-199.

- Klowden, M. J. & H. Briegel. 1994. Mosquito Gonotrophic Cycle and Multiple Feeding Potential: Contrast Between Anopheles and Aedes (Diptera:Culicidae): J. Med. Entomol. 31:618-622.
- Kulasekera, V. L., L. Kramer, R. S. Nasci, F. Mostashari, B. Cherry, S. C. Trock, C. Glaser & J. R. Miller. 2001. West Nile Virus Infection in Mosquitoes, Birds, Horses and Humans, Staten Island, New York, 2000. Emerg. Infect. Dis. 4: 722-725.
- La Corte Dos Santos, R. O. P. Forattini, & M. Nascimento Burattini. 2002. Laboratory and Field Observation on Duration of Gonotrophic cycle of *Anopheles albitarsis* s. l. (Diptera:Culicidae) in Southeastern Brazil, J. med. Entomol. 39: 926-930.
- Mahmood, F. & W. K. Reisen. 1981. Duration of the Gonotrophic cycles of *Anopheles culicifacies* Giles and *Anopheles stephensi* liston, with Observations on Reproductive Activity and Survivorship During Winter in Punjab province, Pakistan. Mosq. News 41(1): 41-49.
- Mancheno, M., A. Kroeger, J. Ordóñez-González. 2001. No más Problemas de Salud Causados por Insectos. Editorial Pax México.
- McCardle, P. W., R. E. Webb, B. B. Norden y J. R. Aldrich. 2004. Evaluation of Five Trapping System for the Surveillance of Gravid Mosquitoes in Prince George County, Maryland. J of Am. Mosq. Control Assoc. 20(3): 254-260.
- McHugh, C. P. 1990. Survivorship and Gonotrophic cycle Length of Culex tarsalis (Diptera: Culicidae) near Sheridan, Placer County, California. J. Med. Entomol. 27: 1027-1030.
- Meyer, R.P. 1991. Urbanization and the efficiency of carbon dioxide and gravid traps for sampling *Culex quinquefasciatus*. J of Am. Mosq. Control Assoc. 7(3): 467-470

- Meyer, R.P., W. K. Reisen & M. M. Milby. 1991. Influence of Vegetation on Carbon Dioxide Trap Effectiveness for Sampling Mosquitoes in the Sierra Nevada Foothills of Kern County, California.. J of Am. Mosq. Control Assoc. 7(3): 471-475
- Moore, C. G., P. Reiter & X. Jin-Jiang. 1986. Determination of Chronological Age in Culex pipiens S. L. J of Am. Mosq. Control Assoc. 2(2): 204-208.
- Mutero, C. M. & M. H. Birley. 1989. The effect of pre-gravid development on the estimation of Mosquito Survival Rates. J. Appl. Ent. 107: 96-101.
- Nasci, R. S., H. M. Savage, D. J. White, J. R. Miller, B.C. Cropp, M. S. Godsey, A. J. Kerst, P. Bennett, K.Gottfried & R. Lanciotti. 2001. West Nile Virus in Overwintering *Culex* Mosquitoes, New York City, 2000. Emerg. Infect. Dis. 4: 742-744.
- Ordôñez-González, J. A., R. Mercado-Hernández, A. E. Flores-Suarez & I. Fernandez-Salas. 2001. The Use of Sticky Ovitraps to Estimate Dispersal of *Aedes aegypti* in Northeastern Mexico. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2: 93-97.
- Porter, C. H., G. R. DeFoliart, B. R. Miller & P. B. Nemenyi. 1986. Intervals to Blood Feeding Prollowing Emergence and Oviposition in Aedes triseriatus (Diptera:Culicidae) J. Med. Entomol. 23: 222-224.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO

- Reisen, W. K., Y. Aslam, T. F. Siddiqui & A. Q. Khan. 1978. A mark-Release experiments with *Culex tritaeniorhynchus* Giles. Trans. R. Soc. Med. Hyg. 72: 167-177.
- Reisen, W. K., M. M. Milby, R. P. Meyer, A. R. Pfuntner, J. Spoehel, J. E. Hazelrigg & J.
 P. Webb. 1991. Mark-Release-Recapture studies with *Culex* Mosquitoes (Diptera:Culicidae) in Southern California. J. Med. Entomol. 28: 357-371.

- Reisen, W. R., H. D. Lothrop and J. L. Hardy. 1995. Bionomics of *Culex tarsalis* (Diptera:Culicidae) in relation to arbovirus transmission in Southestearn California, J. Med. Entomol. 32(3): 316-327.
- Reisen, W. K., H. Lothrop, R. Chiles, M. Madon, C. Cossen, L. Woods, S. Husted, V. Kramer & J. Edman. 2004. West Nile Virus in California. Emerg. Infect. Dis. 8: 1369-1377.
- Reyes, V. F. 1990. El dengue bionomía del vector, transmisión y opciones para su control en México. Ciencias 41: 45-55
- Rodríguez, M. H., D. Bown, J. Arredondo, C. Villarreal, E. Loyola & C. Fredrickson, 1992 Gonotrophic cycle and supervivorship of Anopheles albimanus (Diptera, Culicidae) in Southerm México. J. M. Entomol 29:395-399.
- Rueda, L. M., K. J. Patell, R. C. Axtell and R. C. Stinner 1990. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 27(5):892-898.

VERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO

- Schreiber, E. T., M. S. Mulla, J. D. Chaney and M. S. Dhillon 1988 Dispersal of *Culex quinquefasciatus* from a dairy in southern California. J. of Am. Mosq. Control. Assoc. 4(3): 300-304
- Service, M. W. 1993. Mosquito Ecology (Field Sampling Methods. 2nd edition. Elsevier Science Publishers Ltd. Essex, UK, 820-860.
- SPSS 10.0.1: Statistics Programs of Social Science, 1999. SPSS, Inc.
- Strickman, D. 1988. Rate of Oviposition by Culex quinquefasciatus in San Antonio, Texas, During Three Years. J of Am. Mosq. Control Assoc. 4(3): 339-344.

- Tempelis, C. H. 1975. Host Feeding Patterns of Mosquitoes, with a Review of Advances in Analysis of Blood Meals by Serology. J. Med. Entomol. 11: 635-653.
- Turell, M. J., M. O'Guinn & J. Oliver. 2000. Potential of New York Mosquitoes to Transmit West Nile Virus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 62: 413-414.
- Vinogradova, E. B. 2000. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Pensoft Publishers, Sofia, Bulgaria. 87-107
- Walter, N. M. & C. S. Hacker. 1974. Variation in Life table Characteristics among Three geographic strains of Culex pipiens quinquefasciatus. J. Med. Entomol. 11: 541-550.
- Weber, R.G. & C. Tipping 1990. Drinking as a pre-oviposition behavior of Wild Culex pipiens (Dipter: Culicidae). Ent. News 101 (5): 257-265.
- World Health Organization. 1975. Manual on practical entomology in malaria. II. World Health Organization Geneva.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEO

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Zar, J. H. 1984. Bioestatistical analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N J.

Tabla 1. Número de hembras marcadas de Cx. quinquefasciatus recapturadas por día después de la liberación, en los dos experimentos de marcaje-liberación-recaptura.

Días	12 Junio	14 Junio	Total
Post-liberación	(918) ^a	(1,434)	(2,352)
1,,	8	9	17
2	4	6	10
3	4	5	9
4	5	6	11
5	10	12	22
6 0101	3	4	7
7 ALERE FLAMMA VERITATIS	3	3	6
VERITATIS 8 9 10	7	8	15
9	30	2	5
10	2 / 2	2	4
	2/2/2	i	3
12	0	l l	1
Tasa de recaptura	59(6.4%)	51 (3.5%)	110 (4.7%)

Los estudios se realizaron en el municipio de Pesqueria, N. L. México, durante el año 2004.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

^a número de hembras marcadas y liberadas.

Tabla 2. Determinación de los estadios de Sella de las hembras marcadas de Cx. quinquefasciatus. que fueron recapturadas por día, en el municipio de Pesquería (sitio suburbano cercano a el Área Metropolitana de Monterrey, N. L., Mexico, durante Junio 2004.

	Sella	Ī	Sella	II	Sella	III	Sella	iIV	Sella	īV	Sella	VI	Sella '	VII	
Días post- liberación	A	В	A	В	A	В	Α	В	A	В	A	В	A	В	Total
1	9	8	-	-	•		•	•	í	-	-	-	-	-	17
2	1	NO	5	4	1	-	: -	-	3	-	-	-	-	-	10
3	TALERE	FLAMM			4	3	-	1	2	(=	-		(S	(#	09
4	VE VE	RITATIS				15	2	2	4	3			•		11
S 5				-\<	5	-		-	:=	-	4	4	8	6	22
6			2	1/5	2					-					07
7					1	2	_	1	2	-	- -,	-=1	-) =	06
8		Ďil.		•8			4=	-	1		2	3	5	4	15
9	0	0	2	-	AT	1			- -				1	1	05 (N)
U 10 1 \		(JI	DA		AL				A		TAG	JE			J104 R
11	DIR	EC	CIĆ	N	GE	NE	RA	LΊτ	E	BIB)TE	CA	S	03
12		; <u>-</u>	•	-	-	-		-	<u>-</u>	1	744	-	-	•	01

A Liberación de los mosquitos realizada el día 12 de Junio 2004.

Sella I: Sin alimentar, el abdómen esta colapsado, y los ovarios ocupan un tercio del abdómen.

Sella II: Con sangre fresca, stomago con sangre roja, ovarios ocupan 2-3 segmentos ventralmente y 4 dorsalmente.

Sella III-IV: Medio gravida, sangre rojo oscuro, ovarios ocupan 4-5 segmentos ventralmente y 6 dorsal.

Sella V: Subgravida, sangre muy reducida, color oscuro, ovarios ocupan la mayor parte del abdómen.

Sella VI- VII: Gravida, la sangre solo esta en trazasas en el abdómen o completamente digerida.

^B Liberación de los mosquitos realizada el día 14 de Junio 2004

Tabla 3. Estimados de la regresión de la tasa de sobrevivencia diaria para Cx. quinquefasciatus bajo condiciones de campo, en el municipio de Pesquería, N. L. México, durante Junio 2004.

Coeficiente de a regresión(beta)	Coeficiente de b determinación r ²	Probabilidad de sobrevivenvia diaria
-0.138*	0.638	0.871
-0.124*	0.502	0.883
-0.131*	0.598	0.877
	regresión(beta) -0.138* -0.124*	regresión(beta) determinación r ² -0.138* 0.638 -0.124* 0.502

^a Prueba de ANOVA para determinar la linearidad: * P< 0.05.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

^b Proporción de la varianza de la variable dependiente contado por la variable independiente predictora en el modelo linear (SPSS 10).

^c Ninguna diferencia significativaentre las dos pendientes, compararando las ecuaciones de regresión linear simple (Comparando dosm pendientes) (Zar 1984).

ultracongelador a -70°C, hasta su uso. 5 μ del ARN se combinaron con tres pares de iniciadores (primers) en orden de amplificar los genes prM-E y axial utilizar el conjunto Taq Man RT-PCR ready mix (PE Applied Biosystem, Foster City, CA). Las muestras pasaron por 45 ciclos de amplificación.

El método de Overlay para la titilación de un virus, utilizó placas de 24 pozos, en los cuales se hicieron las diluciones del virus, al tubo primero se le añadió 50µl de la muestra en 450 ml de PBS- PS+ FBS. Se añadieron posteriormente la soluciones de Overlay, que el primero requiere mezclar agua y agar noble en un bote y en otro mezclar ojo rojo, bicarbonato y Dextran, posteriormente se pusieron a hervir y a 40°C, se mezclan y se le aplicó 1 ml a cada pozo y se le adicionó 0.8 ml de solución cornwall y se incubó a 37°C y se observó al tercer día y se le cambia la solución de Overlay 2, que lleva además rojo neutro.

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



Foto 1.- Contenedor con Cx. quinquefasciatus.



Foto 2.-Marcaje con polvos fluorescentes.

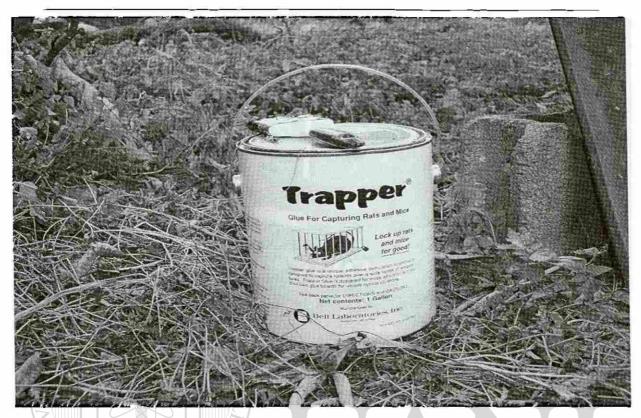


Foto 3.-Adhesivo utilizado en las papeletas de las ovitrampas.

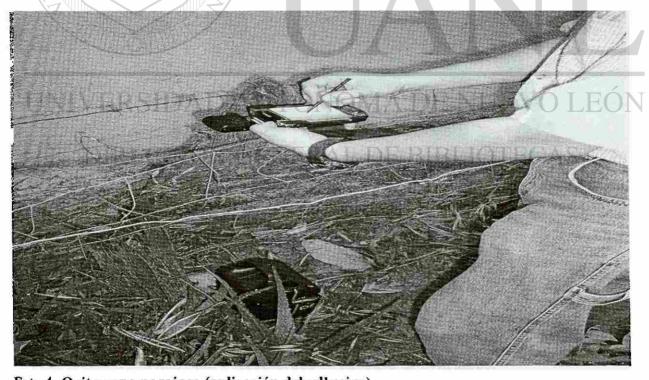
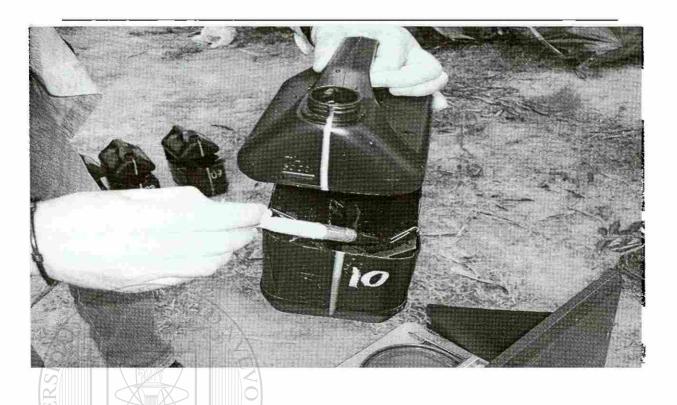


Foto 4.-Ovitrampa pegajosa (aplicación del adhesivo).



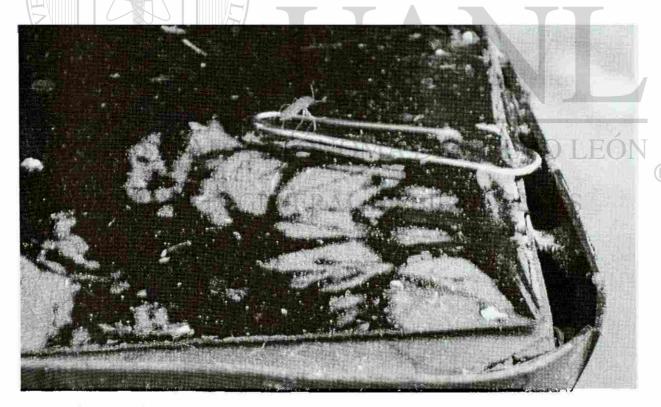


Foto 6.- Mosquito marcado y recapturado en papeleta de ovitrampa.



Capitulo 4

Detección del Virus del Oeste del Nilo en

Cx. quinquefasciatus del estado de Nuevo León, México

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo con el fin de monitorear la actividad del Virus de la Encefalitis del Oeste del Nilo (VON) en mosquitos del estado de Nuevo León, Noreste de México. La fiebre del Oeste del Nilo (VON) es una enfermedad causada por el Virus de la familia Flaviviridae, genero Flavivirus, además pertenece al serocomplejo de la Encefalitis Japonesa (EJ). Es una enfermedad transmitida por vectores que se propaga a una amplia gama de vertebrados a través de mosquitos infectados y garrapatas. Al igual que los casos en humanos, las primeras aves infectadas por el VON en el hemisferio occidental se identificaron en agosto de 1999 en New York; y el principal vector identificado fue el mosquito Cx. pipiens. En el estado de Nuevo León se colectó, por varios métodos a Cx. quinquefasciatus y otros culícidos en varias localidades de los municipios de Guadalupe, Escobedo y Pesquería, se colectaron un total de 238 grupos (pool) de mosquitos de los cuales 82 correspondían a Cx. quinquefasciatus y uno de ellos, de Pesquería, resultó positivo al VON, por lo que es el primer paso para considerar a este mosquito como un vector puente potencial de este virus.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

INTRODUCCION

El virus del Oeste del Nilo es un virus de ARN de cadena sencilla, con sentido positivo y pertenece al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae* (Petersen, et al., 2001, Campbell, et al., 2002). Pertenece al serocomplejo de la encefalitis japonesa (JE) que incluye a Encefalitis del Valle Murray y Encefalits de San Luis (Petersen, et al., 2001). Rappole, et al., (2000) mencionó que el virus del Oeste del Nilo fue identificado por primera vez como un patógeno, en la sangre de una mujer febril en la región del Distrito del Oeste del Nilo en Uganda en 1937.

Es una enfermedad transmitida por vectores, que se propaga a una amplia gama de vertebrados a través de mosquitos infectados y garrapatas. Debido a la proximidad espacial y temporal de las infecciones de aves y humanos, los epidemiólogos han llegado a la conclusión que la transmisión sigue un ciclo enzoótico, en los que participan mosquitos como vectores, aves como reservorios; y ciclos epizooticos en donde intervienen humanos y otros mamíferos como hospederos terminales (Campbell, et al., 2002).

Los principales vectores del VON son las especies de mosquito del género *Culex*, además de algunos otros géneros como *Aedes y Anopheles y Ochlerotatus*. Muchas especies de aves silvestres actúan como hospederos reservorios (Komar, 2003) y generalmente el virus no causa algún efecto desfavorables en ellas en sus áreas de distribución natural, pero en los recientes brotes se han reportado una gran mortalidad en aves (Petersen, et al., 2001, Campbell, et al., 2002).

Cx. quinquefasciatus en estudios de laboratorio ha demostrado ser un vector del Virus del Oeste del Nilo eficiente (Turell, et al., 2000, Goddard, et al., 2002). Reisen, et al., 2004 detectó al VON en grupos (pools) de este mosquito en varas localidades del sur de California y mencionó que circulaba también en Arizona, EUA y Baja California, México. Las evidencias de la actividad del VON en México han sido documentadas para Nuevo León, Coahuila y Tamaulipas en caballos y aves durante el periodo del 2002-2003 (Blitvich, et al., 2003, Blitvich, et al., 2004, Fernández-Salas, et al., 2003).

Para determinar el riesgo potencial de *Cx. quinquefasciatus* para servir como vector puente entre aves y humanos en el Noreste de México se colectaron mosquitos de varias especies en varios sitios cercanos a el área Metropolitana de Monterrey, los cuales se le sometió a varios ensayos para determinar si eran positivos al VON.

OBJETIVOS

- 1. Determinar las especies de mosquitos presentes en los sitios de estudio, además de Cx. quinquefasciatus.
- 2. Determinar por medio de varios ensayos la presencia del Virus del Oeste del Nilo en los mosquitos colectados.

HIPOTESIS

El mosquito Cx. quinquefasciatus se encontrara positivo al Virus del Oeste del Nilo, por lo que será el primer paso para considerar a este mosquito como un vector puente potencial de este virus.

ANTECEDENTES

Sintomatología de la Infección del VON en Humanos

La mayoría de las infecciones humanas son moderadas y los síntomas incluyen fiebre, cefalea y dolor muscular; a menudo se presentan erupciones en la piel y ganglios inflamados. Las infecciones más severas pueden presentar cefalea, fiebre alta, rigidez en el cuello, estupor, desorientación, coma, convulsión, debilidad muscular, parálisis y ocasionalmente la muerte. La mayoría de las personas infectadas con el virus no han tenido síntomas o padecen de manifestaciones parecidas a la Influenza. Muchos se recuperan completamente y no ven en esta enfermedad un gran peligro para la salud o la vida. La muerte ocurre típicamente entre el 3 - 15% de los casos, sin embargo, el promedio de epidemia hacia este punto indica una tasa de mortalidad exactamente por encima del 10%. Las personas con alto riesgo para la infección aguda y muerte, son los ancianos y los niños y aquellos con un sistema inmunológico deficientes como los pacientes de VIH o los que reciben quimioterapia (PAHO, 2001).

Historia del VONIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓ

El virus del Nilo Occidental (VON) se aisló por primera vez en 1937 de la sangre periférica de una mujer en el Oeste la provincia del Nilo de Uganda en África Central. Desde entonces se ha reportado al virus de VON de África del Norte (Egipto, Israel); África Central, Oriental y Sur; Asia (India, Pakistán); Borneo; Europa (Chipre, Francia, Rumania) y, el más recientemente en los E.U. Las pruebas para el anticuerpo a VON sugieren que también ha estado presente en Tailandia, las Filipinas, Malasia, Turquía y Albania. El VON es miembro de la familia Flaviviridae y se relaciona estrechamente a los virus de la encefalitis Japonesa del Viejo Mundo y al virus de la encefalitis San Luis (SLE) del Nuevo Mundo. Además, VON presenta reacción cruzada en una variedad de pruebas serológicas, incluso el análisis de reducción de neutralización de placas, con la Encefalitis del valle Murray (MVE) y con los virus de Usutu, Kunjin, Kokobera, Stratford y Alfuy.

Fue esta reactividad cruzada con los reactivos serológicos de SLE que inicialmente confundió al VON con el de SLE en la Ciudad de New York. Otras pruebas adicionales que usaron exámenes directos de la secuencia genética del virus de NYC lo que lo identificó como VON y no SLE (PAHO, 2001)

Estructura del VON

Los Flavivirus tienen un núcleo icosahédrico de 30 a 35 nm compuesto de múltiples copias de proteínas de cápside de 12-k-Da. La cápside encierra una cadena sencilla, en sentido positivo de RNA de aproximadamente 12,000 nucleótidos. La cápside se encierra en una envoltura derivada de una célula hospedera que ha sido modificada por la inserción de dos glicoproteínas integrales de membrana, E (53kDa) y prM (18-20 kDa). El virion es de 45 a 50 nm de diámetro. En la maduración del virus, la proteína prM es partida en proteína M por una proteasa celular y la proteína M es incorporada en el virion maduro. El genoma también codifica para siete proteínas no estructurales (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5) que arman la maquinaria de replicación intracelular del virus. La glicoproeína E es la proteína inmunológica estructural más importante, es el hemaglutinador viral y media la unión virus-célula hospedera. Todos los flavivirus están cercanamente relacionados antigénicamente lo que ha sido observado en diagnósticos de laboratorio. Los miembros del complejo JE están tan relacionados que se requieren pruebas especializadas (ensayos de neutralización de virus) para determinar cual es el flavivirus (Petersen y Roehrig, 2001). GENERAL DE BIBLIOTECAS

Aislamiento en Mosquitos del VON

Andreadis, et al., (2001) obtuvieron 14 aislamientos de VON de 4 especies de mosquitos (Cx. pipiens (5), Cx. salinarius Coquillett(2), Cx. restuans (4) y Cs. melanura (3)) de Connecticut, en el periodo de Junio a Octubre del 2000. La identificación se realizó por RT-PCR. Analizaron 137,199 mosquitos agrupados en 9,085 grupos de 8 géneros y 32 especies. La mayoría de los aislamientos los obtuvieron en áreas donde hubo grandes densidades de mosquitos, además donde existió una alta tasa de mortalidad en cuervos durante el brote de 1999.y concluyeron que Cx. restuans pareció ser el responsable

de la transmisión de VON a las aves durante el inicio del verano, Cx. pipiens empezó a tener un papel importante en la amplificación del virus al final de esta temporada, Cs. melanura pudo ser importante en la transmisión del VON a nivel de aves silvestres y Cx. salinarius pudo haber sido el puente entre humanos y caballos.

Bernard, et al., (2001) buscaron mosquitos infectados en el estado de New York, en el 2000, por medio de RT- PCR (Taq Man) y encontraron el virus en la ciudad de New York y condados de alrededor, analizaron 7,282 grupos de mosquitos, durante la temporada de transmisión, de los cuales 8 especies se detectaron positivos al VON (358 grupos), que se agruparon en cuatro géneros. Las tasa de infección mínima para 1,000 mosquitos fue la mas alta para Cx. pipiens (3.53) en la temporada completa y (7.49), que fue el pico en Agosto. El número de mosquitos analizados fue de 232,131. Los grupos con mayor numero de positivos fueron Cx. pipiens y Cx. pipiens/restuans con 289 grupos.

Kulasekera, et al., (2001) realizaron una vigilancia epidemiológica del VON en Staten Island, New York, en el 2000 y encontraron positivos a VON, a Ae. vexans, Cx. pipiens, Cx. salinarius, Oc. triseriatus, Ps. ferox y An. punctipennis y propusieron un modelo de transmisión que envuelve a Cx. pipiens y Cx restuans como vectores primarios enzoóticos y epizoóticos entre aves, Cx. salinarius fue el vector puente primario para humanos y para caballos Aedes/Ochlerotatus. Se probaron 24, 068 mosquitos que se agruparon en 7 géneros y 23 especies de mosquitos (967 grupos), de los cuales 131 fueron positivos al virus.

Nasci, et al., (2001) implementaron un programa de vigilancia para monitorear brotes de VON sobre los mosquitos, en 1999; esto se debió a que empezaron los primeros brotes del VON en América (Área de New York y New Jersey), el programa lo empezaron en las primeras semanas de septiembre de ese año y siguieron hasta el siguiente mes, los mosquitos fueron colectados por medio de trampas de gravidez. Analizaron 32,814 mosquitos, representados en 24 especies y agrupados en 1,853 grupos (*Cx. pipiens*, 511 mosquitos, *Cx. pipiens/restuans* 4,686 y *Cx. restuans*, 215); la identificación del virus la realizaron por medio de la técnica molecular de RT-PCR especifico del virus y cultivo de

células Vero y aislaron al virus de 15 grupos de mosquitos colectados, la mayoría de los aislamientos fueron de mosquitos *Cx. pipiens* (6 grupos), *Cx. pipiens/restuans* (7 grupos). Otros de los virus identificados fueron del Subgrupo California, Flanders y EEE.

Yaremych, et al., (2004) monitorearon la prevalencia del VON en mosquitos, en las áreas donde estuvieron capturando cuervos, en la parte este-centro de Illinois, los mosquitos fueron colectados por trampas de luz con CO2, además de trampas de gravidez; este proyecto se realizó por 15 semanas entre Mayo y Septiembre del 2002; Capturaron 595 grupos de mosquitos (grupos de 1 a 50 especimenes), que se agruparon en 10 especies, pero para el genero *Culex*, no lo identificaron a nivel especifico; De estos 20 grupos se encontraron positivos a VON, esto, entre mediados de Julio a finales de Septiembre, 18 fueron de hembras y 1 de machos de *Culex* ssp y 1 de *An. punctipennis* (Say). 14 de los grupos los capturaron trampas de gravidez y el resto en trampa de luz con CO2.

Reisen, et al., (2004) aislaron en California al VON en Cx. tarsalis y Cx. quinquefasciatus, en el condado Imperial (16 grupos positivos), en Los Angeles, lo aislaron de Cx. quinquefasciatus que se colectaron por trampas de gravidez, en septiembre del 2003, por lo que mencionaron que este virus se pudo haber introducido a ese estado, durante Julio del 2003, En Cx. quinquefasciatus encontraron 6 grupos positivos de un total de 1, 036 de esa localidad anteriormente mencionada; los mosquitos fueron tamizados para detección de virus por medio de cultivo celular y para detección del virus por medio de Taq Man.

DIRECCION GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tesh, et al., (2004) detectaron durante sus estudios de monitoreo del VON, a 400 grupos (28 mosquitos/grupo) de mosquitos positivos a este virus entre Enero del 2003 y Marzo del 2004, en el condado Harris, en Texas; fueron capturados por medio de trampas de luz CDC miniatura y trampas de gravidez; se colectaron y analizaron 372,568 mosquitos y el 95% pertenecieron a *Cx. quinquefasciatus*. Los mosquitos fueron probados para la detección de VON por el inmunoensayo de captura de antigeno (EIA) y confirmados por RT-PCR. Entre Julio y Agosto se colectaron la mayor cantidad de grupos positivos (331), pertenecientes al mosquito mencionado.

Efecto de la Temperatura sobre el VON y otros Arbovirus

Hurlbut, (1973) mencionó que el tiempo de incubación del virus de la Encefalitis San Luis en *Cx. quinquefasciatus*, de San Antonio, Texas, desde la infección hasta la transmisión por medio de la alimentación del mosquito, tuvo una relación con la temperatura y dentro el rango de 20 – 30°C, expresado por la ecuación (T-17)D=109, donde T= temperatura y D= Días, similar a esto encontró que el tiempo de digestión de la comida de sangre entre 10 a 30°C, pudo calcularla la ecuación de (T-5)D=50. La razón entre los tiempos de incubación del virus y la digestión de sangre, revelan que la temperatura optima es de 30°C, la sobrevivencia de los mosquitos, bajo las condiciones experimentales para completar la incubación también fue optima a esa temperatura anterior, pero es adverso a 37°C, con una humedad relativa asociada de 37%.

Se ha mencionado que la temperatura puede afectar la habilidad de los mosquitos para transmitir arbovirus, sin embargo observaron que estos resultados no son muy palpables entre los virus y las especies de mosquitos, por lo que evaluaron el efecto de la temperatura de incubación en la habilidad de *Cx. pipiens*, colectados durante el brote en New York,1999, para transmitir VON que obtuvieron de cuervos muertos durante los brotes, los mosquitos se alimentaron de pollos viremicos y la tasa de infección se relaciono directamente con la temperatura de incubación, a 30°C, el virus se recuperó de 98% de los mosquitos probados, la infección diseminada la detectaron a los 4 días post-alimentación y mas del 90% tuvieron la infección a los 12 días de haberse alimentado, En contraste en los mosquitos incubados a 18°C, la diseminación de la infección la detectaron a los 25 días post-alimentación infectiva y a 28 días, menos del 30% tuvieron la infección diseminada; entre 20 - 26°C, fueron los resultados intermedios, por lo que concluyeron que la temperatura ambiental se debe de considerar cuando se evalúa la competencia vectorial de los mosquitos sobre los modelos de riesgo de transmisión del VON en la naturaleza (Dohm, et al., 2001, Dohm, et al., 2002a).

Transmisión Vertical del VON y otros Arbovirus

Shroyer, (1990) colocó a hembras de laboratorio de *Cx. quinquefasciatus* vírgenes con machos infectados del virus de encefalitis de San Luis (SLE), cuando estas hembras fueron probadas para detección del virus después de 7 a 28 días posteriores a la exposición a los machos infectados y encontró que el 23 y el 25%, respectivamente fueron infectadas con este virus, de estas el 58% fueron hembras inseminadas y el 23% fueron hembras virgenes, esto demostró que hubo transmisión vertical de este virus, además que la transmisión venérea de machos a hembras demostró la horizontal, por lo que concluyó que si se encuentran a machos silvestres infectados verticalmente con SLE, podrían infectar a las hembras.

Dohm, et al., (2002b) mencionaron que a pesar que detectaron el VON en Cx. pipiens en invierno (en una tasa pequeña), los mecanismos por los cuales el virus persiste en el invierno y resurge en primavera, con infecciones en hospederos vertebrados y vectores, permanecen desconocidos, por lo que investigaron que puede existir una transmisión vertical, como medio de sobrevivencia viral, por lo que inocularon intratoracicamente a Cx. pipiens y Ae. albopictus con VON y analizaron la progenie para la presencia del virus; de la primera especie encontraron el virus en 2 de 1,417 mosquitos de la progenie, por lo que la tasa de infección mínima filial (MFIR) es de 1,4/1,000, esto a 18°C; a 26°C, fueron 4 de 1,873 (MFIR= 2.1/1,000), el titulo promedio del grupo positivo fue de 10⁵⁶ unidades formadoras de placa/ ml de virus.

Comparación de los Métodos de Detección y Transmisión Experimental del VON

Turell, et al., (2000) evaluaron el potencial de los mosquitos de New York para transmitir el VON, los mosquitos que se colectaron por trampa de luz con CO2, los inocularon oralmente, dejando que se alimentaran de pollos infectados con VON, que aislaron de un cuervo muerto durante los brotes de 1999; los mosquitos fueron observados dos semanas postalimentación para determinar la infección, diseminación y tasa de transmisión. Encontraron que los mosquitos Cx. pipiens fueron susceptibles a la

infección (81%) y de estos la tasa de diseminación fue del 16% y la tasa de transmisión diseminada fue de 86%, los cuales la mayoría pudieron transmitir el virus por medio de su alimentación.

Sardelis, et al., (2001) estudiaron las tasa de infección, diseminación y transmisión para mosquitos expuestos oralmente al VON, entre ellos estuvieron cuatro especies de *Culex* incluyendo a *Cx. quinquefasciatus y* una de *Coquilletidia* de Norte América. Para la especie mencionada de *Culex* probaron 124 mosquitos, la tasa de infección osciló de 50 a 94%, esto en Vero Beach, la tasa de diseminación fue de 5 a 22% y la de transmisión fue de 0 a 20%, por medio de inoculación intratoracica encontraron un 94% de transmisión.

Goddard, et al., (2002) estudiaron la competencia vectorial de varios mosquitos para el VON en California, los mosquitos fueron infectados oralmente por alimentación con gotas de sangre de conejo, con VON del brote de 1999, posteriormente a los 7 y 14 días, inmovilizaron a los mosquitos con trietilamina y colocaron sus probóscide en un capilar, con una solución de sucrosa y FBS y encontraron que todos los mosquitos fueron susceptibles a la infección, Las tasa de infección de las especies de *Culex y Cs. inornata* que probaron a los 14 días, se encontraron con altas dosis de virus que oscilan de 58 a 100%, menos *Cx. quinquefasciatus* de Coachella Valley que fue menor al 15%; para la transmisión del virus el mas eficiente que encontraron fue *Cx. tarsalis* con 60% de transmisión, seguido por *Cx. quinquefasciatus* de Bakersfield con 52%. La misma especie de Coachella Valley, se encontró con transmisión de <6%, por lo que se consideró un vector pobre para VON.

Nasci, et al., 2002 compararon el ensayo de placa de células Vero, Taq Man[®] que es la reacción en cadena de la polimerasa de la transcriptasa inversa y el ensayo antigénico Vec Test™ para la detección del ARN viral del VON en mosquitos colectados en campo, colectados en Staten Island, durante la epidemia de VON en el 2000, los identificaron a especies y los agruparon en grupos de 50 individuos, en total probaron 10,866 especimenes, agrupados en 801 grupos y concluyeron que el ensayo de placa detectó el 74% de los grupos positivos por Taq Man RT-PCR y el Vec Test detectó evidencia del antigeno viral

en 60% de los positivos por Taq Man, además Vec Test detectó el 67% de los grupos que contenían virus vivo detectado en el ensayo de placa.

MATERIAL Y METODO

Descripción del Área de Estudio

El área donde se realizó el estudio fue en dos municipios del área Metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México y en un municipio conurbano. Los dos primeros son Guadalupe y Escobedo y el último Pesquería.

En las ciudades de Guadalupe (25° 44' N y 100° 16' O) y Escobedo (27° 14' N y 101° 24' O). El clima de esta región puede ser descrito como cálido y semihúmedo, con precipitación limitada, excepto por tormentas fuertes ocasionales. La precipitación promedio anual es de 600 mm y la temperatura promedio anual es de 28° C. Las elevaciones sobre el nível del mar oscilan entre 450–530 metros. La población de Guadalupe es de 670,162 habitantes y en Escobedo es 233,455. Esto dos municipios presentan áreas urbanas y suburbanas. Los ríos Pesquería y Santa Catarina se encuentran cerca de las áreas de estudio, en las dos ciudades respectivamente.

El otro municipio conurbano es Pesquería, el cual se encuentra localizado a 30 kilómetros al noreste de la ciudad de Monterrey, en el estado de Nuevo León, México (25° 47' N y 100° 03' W) y tiene 11,321 habitantes. Este lugar se encuentra en un área suburbana cercana a cultivos de cereales (maíz, trigo, cebada y avena), se encentra a 400 metros sobre el nivel del mar. El río Pesquería atraviesa esta región y el área de estudio se encuentra localizada en donde los asentamientos humanos se encuentran establecidos a lo largo del río. La vegetación se encuentra representada por matorral submontano y es una planicie (valle aluvial). El promedio de precipitación anual es de 550 mm. El promedio mensual de precipitación durante la temporada de sequía es de 40 mm y es de Junio a Agosto. La temperatura promedio anual es de 28° centígrados. La humedad se mantiene entre 40 y 60%, en la noche prevalecen vientos de menos de 1.15 Km./ h.

Colecta de Mosquitos

Los mosquitos fueron colectados durante el periodo de Junio del 2003 a Septiembre del 2004. Empleando las siguientes técnicas de colecta mencionadas: Trampas de luz CDC miniatura de luz clara y negra mas dióxido de carbono (CO2) (Foto 4), aspirado por medio de un aspirador de espalda motorizado, para colectas intradomiciliares (Foto 2), peridomiciliares y en vegetación (Foto 1 y 3), colecta de estadios inmaduros con emergencia en laboratorio (Demostrar posible transmisión transovarica) y cebo humano con aspirador bucal o de baterías (Foto 5 y 6). Después de la colecta, los mosquitos se transportaron en contenedores con hielo seco (CO2) al laboratorio de Entomología Médica de la Facultad de Ciencias Biológicas, U. A. N. L., donde se separaron en grupos de mosquitos de 10 individuos (pool), separándose en especies, sexo, fecha y método de colecta, esto se realizó sobre una mesa fría y bajo observación del estereoscopio. Posteriormente los mosquitos se almacenaron en un ultracongelador (-70 °C) y se transportaron en contenedores con hielo seco a University of Texas Medical Branch (UTMB), para ser procesados para el aislamiento del virus.

Aislamiento del Virus

Los grupos de mosquitos de 10 individuos fueron triturados manualmente, en I ml de solución amortiguadora salina de fosfatos (PBS, pH 7.4), que contenía 30% de suero fetal de bovino y antibióticos (penicilina, estreptomicina y anfotericina). La suspensión resultante se centrifugó a 12, 000 rpm por 5 minutos; entonces 200 µl del sobrenadante se inoculó adentro de un frasco de cultivo de una monocapa de células Vero. Después de 1 hora de absorción a 37 °C, se le añadió el medio de mantenimiento; el cultivo se mantuvo en una incubadora a 37 °C y 5% de CO2 y se revisó diariamente para buscar evidencia del efecto citopatico (CPE).

Si se observó el efecto citopatico en las células Vero, se realizaron pruebas de inmunofluorescencia indirecta, prueba de la inhibición de la hemaglutinación (HI), el ensayo antigenico Vec Test WNV/SLE (Medical Analysis Systems, Camarillo, CA) y

transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa. Se tituló el virus por medio del método de Overlay.

La prueba inmunofluorescencia indirecta (IFA) para la detección de antigenos para VON consistió en el uso de laminillas, que se prepararon obteniendo 15 μl de las células del frasco y se depositaron en los pozos de la laminilla y se dejaron secar dentro de un gabinete de bioseguridad con flujo laminar, posteriormente se fijaron con acetona; las laminillas se titularon, utilizando PBS + PS y se hicieron las diluciones (10–320), las cuales se colocaron en los pozos y se incubaron por 1 hora a 37°C, posteriormente siguieron 2 lavados y se agregó 20 μl del conjugado y se incubaron en una cámara húmeda por 1 hora, donde se secaron en una incubadora y se procedió a realizar la observación.

Los anticuerpos a VON se midieron por la inhibición de la hemaglutinación, los antigenos para esta prueba se prepararon de cerebros de ratones recién nacidos infectados con la una cepa de VON y se extrajo por el método de sucrosa-acetato.

El ensayo antigenico Vec Test WNV/SLE se empleó para detectar el antigeno del virus del Oeste del Nilo en los grupos de mosquitos. Esta prueba es una inmunocromatografía cualitativa que utiliza anticuerpos monoclonales específicos que detectan el antigeno del VON o ESL. Los cultivos con efecto citopatico se probaron, añadiendo 100 µl del cultivo en un tubo cónico, se le agregó 100 µl de la solución de triturado incluida en el conjunto. La tira de prueba se colocó en el tubo y la mezcla migró a la tira, el antigeno viral si se encuentra presente, reaccionó con los anticuerpos monoclonales conjugados, que contiene la tira. El complejo antigeno- anticuerpo migró a la zona de prueba que contiene sustancias fijadoras para este complejo y se acumuló hasta formar una línea roja visible.

El ARN viral se extrajo del cultivo monocapa de células Vero infectado, obteniendo 140 µl del sobrenadante de este cultivo, empleando el conjunto de extracción de ARN viral QiaAMP (QIAGEN Inc., Valencia, CA), El ARN se extrajo de la columna QIAgen, en un volumen final de 100ml de solución amortiguadora de elución y se almacenó en un

ultracongelador a -70°C, hasta su uso. 5 μ del ARN se combinaron con tres pares de iniciadores (primers) en orden de amplificar los genes prM-E y axial utilizar el conjunto Taq Man RT-PCR ready mix (PE Applied Biosystem, Foster City, CA). Las muestras pasaron por 45 ciclos de amplificación.

El método de Overlay para la titilación de un virus, utilizó placas de 24 pozos, en los cuales se hicieron las diluciones del virus, al tubo primero se le añadió 50µl de la muestra en 450 ml de PBS- PS+ FBS. Se añadieron posteriormente la soluciones de Overlay, que el primero requiere mezclar agua y agar noble en un bote y en otro mezclar ojo rojo, bicarbonato y Dextran, posteriormente se pusieron a hervir y a 40°C, se mezclan y se le aplicó 1 ml a cada pozo y se le adicionó 0.8 ml de solución cornwall y se incubó a 37°C y se observó al tercer día y se le cambia la solución de Overlay 2, que lleva además rojo neutro.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESULTADOS

Colecta de Mosquitos

Un total de 238 grupos (pools) de mosquitos se colectaron durante el periodo del estudio, el cebo humano fue el método de colecta, por el cual se colectaron mas especimenes (40.3%), seguido del aspirado intradomiciliar (23.1%) y las trampas de luz con dióxido de carbono (21.8%); del total de culícidos capturados el 61.8% fueron hembras y el 38.2% machos (Tabla 1).

Del total de especimenes colectados el 35.3% fueron Cx. quinquefasciatus, de los cuales las trampas de luz y el aspirado en vegetación resultaron con casi el 16% de los mosquitos capturados totalmente, por cebo humano solo se obtuvo el 6.7%; el 51.2de los Cx. quinquefasciatus fueron hembras y el 48.8% machos (Tabla 2)

Las especies de culícidos que se colectaron en los tres municipios fueron Cx. quinquefasciatus y Ae. aegypti; en Guadalupe y Escobedo, Cx. coronador Dyar y Knab, Ps. Ferox (Von Humboldt), Ps. cyanescens (Coquillett) y Ps. ciliata (Fabricius); y los mosquitos que solamente se encontraron en Pesquería fueron. Ae. vexans (Meigen), Oc. taeniorhynchus (Wiedemann), Ps. confinnis (Lynch Arribalzaga) y dos especies de Anopheles. (Tabla 3).

TENERAL DE BIBLIOTE

En total se colectaron 2,297 mosquitos, representados en 4 géneros y 11 especies y se agruparon en los 238 grupos ya mencionados. La especie mas colectada fue Cx. quinquefasciatus con 82 grupos de mosquitos (798 ejemplares), seguido de Ps. ferox con 70 con grupos, con 697 especimenes y en tercer lugar se encuentra Ae. aegypti con 40 grupos (399 especimenes), las especies que solo tuvieron un grupo fueron Ae. vexans, An. pseudopunctipennis y An. quadrimaculatus Macquart, siendo esta última, en la que solo se consiguieron 2 especimenes (Tabla 4).

Solamente de un grupo de mosquitos se aisló el Virus del Oeste del Nilo, este perteneció a *Cx. quinquefasciatus* (10 especimenes hembras), colectados el 10 de Junio del 2003, en el Ejido Francisco Villa, Pesquería, N. L., México y fue colectado por aspirado en vegetación, se identificó por medio de inmunofluorescencia, la prueba de inhibición de la hemaglutinación, el ensayo antigenico Vec Test y RT-PCR y se tituló por el método de Overlay y por este método resulto con 10² unidades formadoras de placa / mililitro.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

DISCUSIONES

De los 238 grupos de mosquitos capturados, el método de colecta con mayor porcentaje de capturas fue el cebo humano (40.3%), seguido por el aspirado intradomiciliar (23.1%), después la trampa de luz CDC miniatura (luz blanca y obscura) (21.8%), en cuarto lugar el aspirado en vegetación (casi 8%) y por último los mosquitos que emergieron en laboratorio (6.7%)(Tabla 1), pero el método de colecta que se utiliza preferentemente es la trampa de gravidez y las trampas de luz CDC con CO2 (Nasci, et al., 2001, Reisen, et al., 2004, Tesh, et al., 2004 yaremych, et al., 2004); de los mosquitos colectados, solo se colectó a un grupo de mosquitos positivos al VON (Cx. quinquefasciatus), colectados por medio del aspirado en vegetación en una localidad de Pesquería. Al no encontrarse positivos los mosquitos que se colectaron en etapas inmaduras y que emergieron en laboratorio (los de menor porcentaje colectados), no fue posible demostrar la transmisión transovarica (vertical) del virus, pero la transmisión vertical, de este virus ha sido detectada en New York experimentalmente, en una tasa baja (0.14%) por Dohm, et al., (2002), si consideramos este resultado y los mosquitos capturados en las colectas en Nuevo León (2297, enlistados en 238 grupos), solo podríamos encontrar a 3 mosquitos positivos al VON verticalmente. Por otro lado, el 38.2% de los mosquitos totales fueron machos (Tabla 1), pero también fueron negativos al virus, por lo que no se demuestra la posibilidad de transmisión por medio de inseminación (transmisión venérea) como lo ha demostrado Shroyer, (1990) que colocó a hembras de laboratorio de Cx. quinquefasciatus vírgenes con machos infectados del virus de encefalitis de San Luis (SLE) y encontró que entre 23 y 25% fueron infectadas con este virus, de estas el 58% fueron hembras inseminadas y el 23% fueron hembras vírgenes, lo que demostró que hubo transmisión vertical de este virus, además de transmisión venérea de machos a hembras.

Del total de mosquitos, la especie que tuvo el mayor porcentaje de representación fue Cx. quinquefasciatus (34.4%), seguido por Ps. ferox (29.4%), posteriormente Ae. aegypti (16.38%), los siguientes fueron Oc. taentorhynchus y Cx. coronator con un 11.76% entre ambos, los que tuvieron menos de 10 grupos de mosquitos fueron Ps. cyanesecens, Ps. ciliata, Ps. confinnis, Ae. vexans, An. pseudopunctipennis y An.

quadrimaculatus, entre todos con una representación del 7.9% (Tabla 4), pero solo se encontró positiva al VON a la especie ya mencionada (*Cx. quinquefasciatus*), también la encontraron positiva en Texas (Tesh, , et al., 2004) y en California (Reisen , et al., 2004); no se encontraron positivas a otras especies como lo reportaron (Andreadis, et al., 2001, Kulasekera, et al., 2001 yaremich, et al., 2004, Tesh , et al., 2004), posiblemente porque el número de especimenes colectados fue reducido en comparación a los reportados por los autores anteriores.

Por otro lado, el grupo de *Cx. quinquefasciatus* positivo al VON, no perteneció, a los municipios del área metropolitana de Monterrey (urbanos), sino a uno suburbano, que colinda con los municipios urbanos, como lo es Pesquería (30 Km. de Monterrey) (Tabla

Las pruebas se realizaron para detección del VON fueron la que inmunofluorescencia indirecta, prueba de la inhibición de la hemaglutinación (HI), el ensayo antigénico Vec Test WNV/SLE (Medical Analysis Systems, Camarillo, CA) y transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa. Y en todos se encontró positivo, aunque Nasci, et al., (2002) concluyeron en su estudio que el ensayo de placa detectó el 74% de los grupos positivos por Taq Man RT-PCR y el Vec Test detectó evidencia del antigeno viral en 60% de los positivos por Taq Man, además Vec Test detectó el 67% de los grupos que contenían virus vivo detectado en el ensayo de placa. La titulación se realizó por el método de Overlay y el resultado que dio fue de 102 unidades formadoras de placa / mililitro, que fue menor a la reportada por Dohm, et al., (2002) en laboratorio, que fue de 10⁵⁶ unidades formadoras de placa / mililitro.

Considerando que se encontró a 1 (0.42%) grupo de mosquitos hembras de *Cx. quinquefasciatus*, positivo al VON esto podría convertirlo en un vector puente potencial importante del Virus del Oeste del Nilo en México; el porcentaje de positividad solo fue mayor al reportado por Andreadis, et al., (2001) que encontraron el 0.15% de positividad en Connecticut, evaluando 9,085 grupos (137,199 mosquitos); Nasci, et al., (2001) reportaron el 0.8% de positividad en New York y New Jersey, de 1, 853 grupos (32,814 mosquitos);

Yaremych, et al., (2004) encontraron de positividad el (3.36%) en Illinois, pero no separaron las especies de *Culex*; el porcentaje mas alto lo reportaron Kulasekera, et al., (2001) y fue de 13.54% de 967 grupos (24,068 mosquitos) en New York. Los investigadores que colectaron a *Cx. quinquefasciatus*, fueron Tesh, et al., (2004) que encontró el 3% de positividad en Texas, lo que es 400 grupos con VON de 13,306 grupos (> 350,000mosquitos) de los cuales mas del 95% fueron esta especie y Reisen, et al., (2004) que encontraron una positividad del 1.54% (16 grupos de 1,036 grupos y de los positivos 6 fueron de *Cx. quinquefasciatus*. Por otro lado cabe mencionar que faltan realizarse mas estudios para incriminar a este mosquito como vector en México, entre ellos estudios de laboratorio, por ejemplo calcular la tasa de infección, diseminación y transmisión del VON para mosquitos ya sea expuestos oralmente o por inoculación intratoracica, como los realizados por Turell, et al., (2000), Sardelis, et al., (2001), Goddard, et al., (2002).

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CONCLUSIONES

El método de colecta con mayor porcentaje de capturas fue el cebo humano (40.3%), seguido por el aspirado intradomiciliar (23.1%), después la trampa de luz CDC miniatura (luz blanca y obscura) (21.8%), en cuarto lugar el aspirado en vegetación (8%) (Tabla 1), por este último se encontró positivo al VON un grupo de mosquitos del municipio de Pesquería, Nuevo León, área suburbana, que colinda con los municipios metropolitanos de Monterrey, en Junio del 2003.

Las pruebas que se realizaron para detección del VON fueron la inmunofluorescencia indirecta, prueba de la inhibición de la hemaglutinación (HI), el ensayo antigénico Vec Test WNV/SLE (Medical Analysis Systems, Camarillo, CA) y transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa. Y en todos estos ensayos el grupo de mosquitos resultó positivo a este virus. La titulación se realizó por el método de Overlay y el resultado que dio fue de 10² unidades formadoras de placa / mililitro.

Al no encontrar positivos al VON a mosquitos que emergieron en laboratorio, ni a machos, no se determinó la transmisión transovarica, ni la posibilidad de transmisión venérea.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO I

Las especies que tuvieron el mayor porcentaje de representación fue Cx. quinquefasciatus (34.4%), seguido por Ps. ferox (29.4%), Ae. aegypti (16.38%), los siguientes fueron Oc. taeniorhynchus y Cx. coronator (11.76% entre ambos), pero solo la primera resultó positiva al VON.

Considerando que se encontró a positivo a VON a 1 (0.42%) grupo de mosquitos hembras de *Cx. quinquefasciatus*, esto podría convertirlo en un vector puente potencial importante del Virus del Oeste del Nilo en el noreste de México.

REFERENCIAS CITADAS

- Andreadis, T. G., J. F. Anderson, & C. R. Vossbrinck. 2001. Mosquito surveillance for West Nile virus in Connecticut, 2000: isolation from *Culex pipiens*, *Cx. restuans*, *Cx. salinarius* and *Culiseta melanura*. Emerg. Infect. Dis. 7 (4): 670-674.
- Bernard, K. A., J. G. Maffei, S. A. Jones, E. B. Kauffman, G. D. Ebel, A. P. Dupuis II, K. A. Ngo, D. C. Nicholas, D. M. Young, P. Y. Shi, V. L. Kulasekera, M. Eidson, D. J. White, W. B. Stone, NY State West Nile virus surveillance team and L. D. Kramer. 2001. West Nile virus infection in birds and mosquitoes, New York state, 2000. Emerg. Infect. Dis. 7 (4): 679- 685
- Blitvich, B. J., I. Fernádez- Salas, J. F. Contreras-Cordero, N. L. Marlenee, J. I. González-Rojas, N. Komar, et al 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Horses, Coahuila State, México. Emerg. Infect. Dis. 9 (7): 853-856.
- Blitvich, B. J., I. Fernández- Salas, J. F. Contreras-Cordero, M. A. Lorono-Pino, N. L. Marlenee, F.J. Díaz, J. I. González-Rojas, N. Obregón-Martinez, J. A. Chiu-García, W. C. Black IV & B. J. Beaty. 2004. Phylogenetic Analysis of West Nile Virus, Nuevo León State, México. Emerg. Infect. Dis. 7: 1314-1317.
- Campbell, G. L., A. A. Marfin, R. S. Lanciotti, D. J. Gubler. 2002 West Nile virus. Lancet Infect Dis. 2:519-29.
- Dohm, D. J., & M. J. Turell. 2001. Effect of incubation at overwintering temperatures on the replication of West Nile virus in New York Culex pipiens (Diptera: Culicidae). J. med. Entomol. 38(3): 462-464.
- Dohm, D. J., M. L. O'guinn, & M. J. Turell. 2002a. Effect of environmental temperatura on the ability of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. J. Med.

Entomol. 39 (1): 221-225.

- Dohm, D. J., M. R. Sardelis, & M. J. Turell. 2002b. Experimental vertical transmisión of West Nile virus by *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 39 (4): 640-644.
- Fernández- Salas, I., J. F. Contreras-Cordero, B. Blitvich, J. I. González-Rojas, A. Cavazos -Álvarez, N. L. Marlenee, A. Elizondo-Quiroga, M. A. Lorono-Pino, D. J. Gubler, B. C. Cropp, C. H. Calisher & B. J. Beaty. 2003. Serologic Evidence of West Nile Virus Infection in Birds, Tamaulipas State, México. Vector Borne Zoonotic Dis. 3: 209-213.
- Goddard, L. B., A. E. Roth, W. K. Reisen & T. W. Scott. 2002. Vector Competence of California Mosquitoes for West Nile Virus. Emerg. Infect. Dis. 12: 1385-1391.
- Hurlbut, H. S. 1973. The effect of environmental temperature upon the transmission of St. Louis encephalitis virus by *Culex pipiens quinquefasciatus*. J. med. Entomol. 10 (1): 1-12.
- Kulasekera, V. L., L. Kramer, R. S. Nasci, F. Mostashari, B. Cherry, S. C. Trock, C. Glaser and J. R. Miller. 2001. West nile virus infection in mosquitoes, birds, horses, and humans, Staten Island, New York, 2000. Emerg. Infect. Dis. 7(4): 722-725.
 - Komar, N. 2003. West Nile virus: epidemiology and ecology in North America. Adv Virus Res. 61:185-234.
 - Nasci, R. S., D. J. White, H. Stirling, J. Oliver, T. J. Daniels, R. C. Falco, S. Campbell, W. J. Crans, H. M. Savage, R. S. Lanciotti, C. G. Moore, M. S. Godsey, K. L. Gottfried, & C. J. Mitchell. 2001. West Nile virus isolates from mosquitoes in New York and New Jersey, 1999. Emerg. Infect. Dis. 7(4): 626-630.

- Nasci, R. S., K. L. Gottfried, K. L. Burkhalter, V. L. Kulasekera, A. J. Lambert, R. S. Lanciotti, A. R. Hunt, & J. R. Ryan. 2002. Comparision of vero cell plaque assay, Taq Man[®], reverse transcriptase polymerase chain reaction RNA assay, and Vectest™, antigen assay for detection of West Nile virus in field-collected mosquitoes. J. Am. Mosq. Control Assoc. 18 (4): 294-300.
- PAHO. 2001. Virus del Nilo Occidental en las Américas 2001 (En Línea) Disponible en: http://www.paho.org/Spanish/sha/be-v2In4-nilo.htm (2002, Enero, 10)
- Petersen, L. R., & J. T. Roehrig. 2001. West Nile virus: A reemerging global Phatogen. Emerg. Infect. Dis. 7(4): 611-614.
- Rappole, J. H. S. R. Derrickson, & Z. Hubalek. 2000. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. Emerg Infect Dis. 6:319-28.
- Reisen, W. K., H. Lothrop, R. Chiles, M. Madon, C. Cossen, L. Woods, S. Husted, V. Kramer & J. Edman. 2004. West Nile Virus in California. Emerg. Infect. Dis. 10(8): 1369-1377.
- Sardelis, M. R., M. J. Turell, D. J. Dohm, and M. L. O'Guinn. 2001. Vector competence of selected North American *Culex* and *Coquilletidia* mosquitoes for West Nile virus. Emerg. Infect. Dis. 7 (6): 1018-1022.
- Shroyer, D. A. 1990. Venereal Transmission of St. Louis Encephalitis virus by *Culex quinquefasciatus* males (Diptera:Culicidae). J. med . Entomol. 27 (3): 334-337.
- Tesh, R. B., R. Parson, M. Siirin, Y. Randle, C. Sargent, H. Guzman, T. Wuithiranyagool, S. Higgs, D. L. Vanladingham, A. A. Bala, K. Haas, and B. Zerinque. 2004. Yearround West Nile virus activity, Gulf coast region, texas and Louisiana. Emerg. infect.

Dis. 10 (9): 1649-1652.

Turell, M. J., M. O'Guinn & J. Oliver. 2000. Potential of New York Mosquitoes to Transmit West Nile Virus. Am. J. Trop. Med. Hyg. 62: 413-414.

Yaremych, S. A., R. E. Warner, P. C. Mankin, J. D. Brawn, A. Raim, and R. Novak. 2004. West Nile virus and high deathrate in American crow. Emerg. Infect. Dis. 10(4): 709-711.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 1. Mosquitos Culícidos capturados por los diferentes métodos de captura. La colecta se realizó en los Municipios de Guadalupe, Escobedo y Pesquería, N. L., México, durante el periodo de Junio 2003-Septiembre 2004. Los datos se presentan como numero de capturados y porcentaje de capturados.

Método de Colecta	No. de grupos capturados' (%)
Trampa de Luz	52 (21.8%)
Cebo Humano	96 (40.3%)
Aspirado en Vegetación	19 (07.9%)
Aspirado Intradomiciliar	55 (23.1%)
Emergencia en Laboratorio	16 (06.7%)
Total	238 grupos de mosquitos

Grupo de mosquitos (pool) de 10 especimenes.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

²Porcentaje Hembra/ Macho:61.7%(147)/38.2% (91) del total de culícidos capturados.

Tabla 2. Mosquitos Cx. quinquefasciatus capturados por los diferentes métodos de captura. La colecta se realizó en los Municipios de Guadalupe, Escobedo y Pesquería, N. L., México, durante el periodo de Junio 2003-Septiembre 2004. Los datos se presentan como numero de capturados y porcentaje de capturados totales n= 238.

Método de Colecta	No. de grupos capturados¹ (%)		
Trampa de Luz	19 (07.9%)		
Cebo Humano MMAM	16 (06.7%)		
Aspirado en Vegetación	19 (07.9%)		
Aspirado Intradomiciliar	19 (07.9%)		
Emergencia en Laboratorio	09 (03.8%)		

Total 82 (35.3%) grupos de mosquitos

¹Grupo de mosquitos (pool) de 10 especimenes.

²Porcentaje Hembra/ Macho: 51.2%(42)/49.8%(38) del total de Cx. quinquefasciatus.

Tabla 3. Especies de mosquitos capturados en los Municipios de Guadalupe, Escobedo y Pesquería, N. L., México, durante el periodo de Junio 2003-Septiembre 2004. Los datos se presentan como especies capturadas.

Escobedo Cx. quinquefasciatus y Ae. aegypti. Cx. quinquefasciatus, Cx. coronator, Ps. ferox, Ps. cyanescens, Ps. ciliata y Ae. aegypti. Cx. quinquefasciatus, Cx. coronator, Ps. ferox, Ps. cyanescens, Ps. ciliata y Ae. aegypti. Cx. quinquefasciatus, Cx. coronator, Ps. ferox, Ps. confinnis, Ps. cyanescens, Ps. ciliata, Ae. aegypti, Ae. vexans, Oc. taeniorhynchus,

An. pseudopunctipennis y An. quadrimaculatus.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 4. Resumen de los mosquitos colectados en los Municipios de Guadalupe, Escobedo y Pesquería, N. L., México, durante Junio del 2003-Septiembre 2004, que fueron analizados para la detección del VON.

Género y especie	No. de grupos (pool)	No. de mosquitos
Ae aegypti	39	399
Ae. vexans TONOM	01	010
Oc. taeniorhynchus	15	146
An pseudopunctipennis	01	008
An. quadrimaculatus	_01	002
Cx, quinquefasciatus	82	798
Cx, coronator	13	118
Ps. ciliata	05	022
Ps, confinnis RSIDA	D AUTÓNOMA	DE NOSEVO LEÓN
Ps. cyanescens	ON GENERAL DE	DIDI IOTECAS
Ps. ferox	70	697
		
Total	238	2297

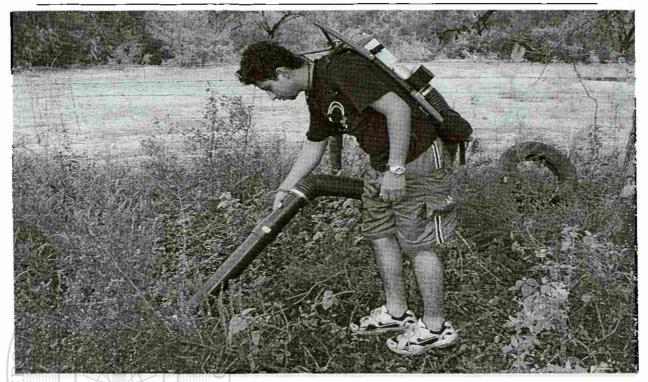


Foto 1. Aspirado de Vegetación.

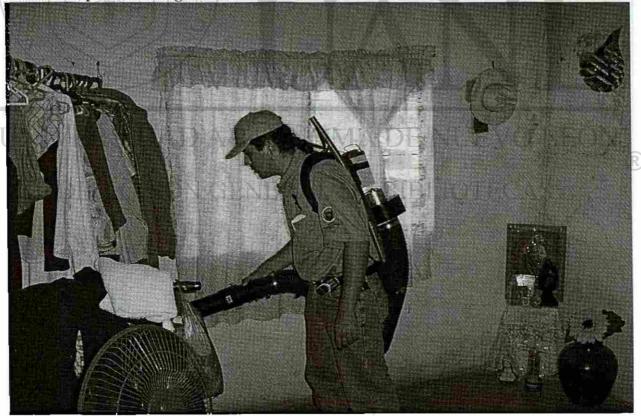


Foto 2. Colecta Intradomicilio

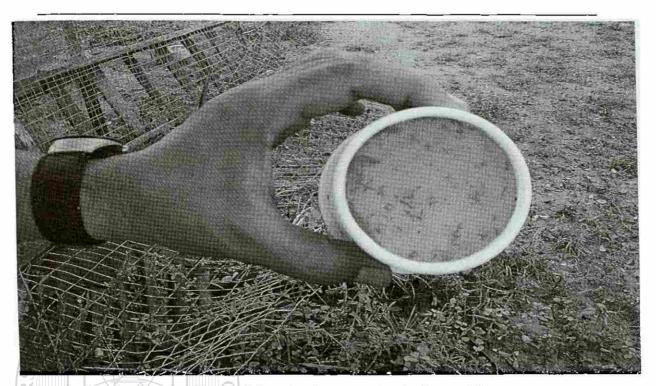


Foto 3. Contenedor de plástico del aspirador motorizado de espalda.

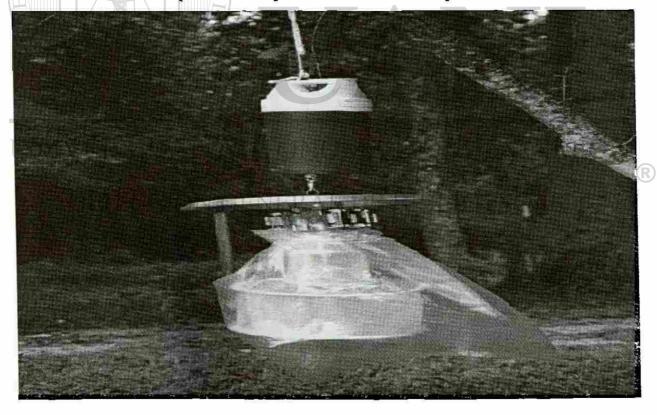


Foto 4. Trampa de luz CDC con termo con CO2.

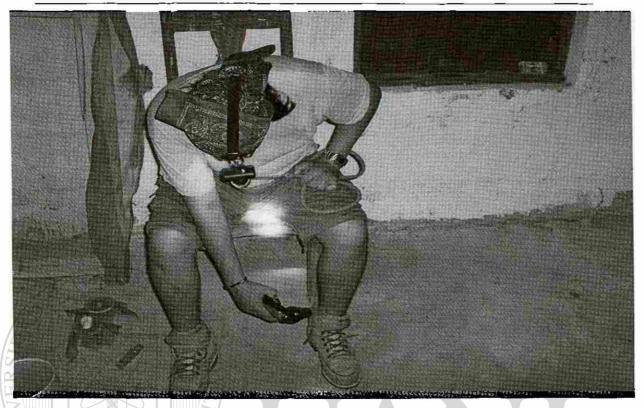


Foto 5. Cebo humano con aspirador de baterías



Foto 6. Cebo humano con aspirador bucal

