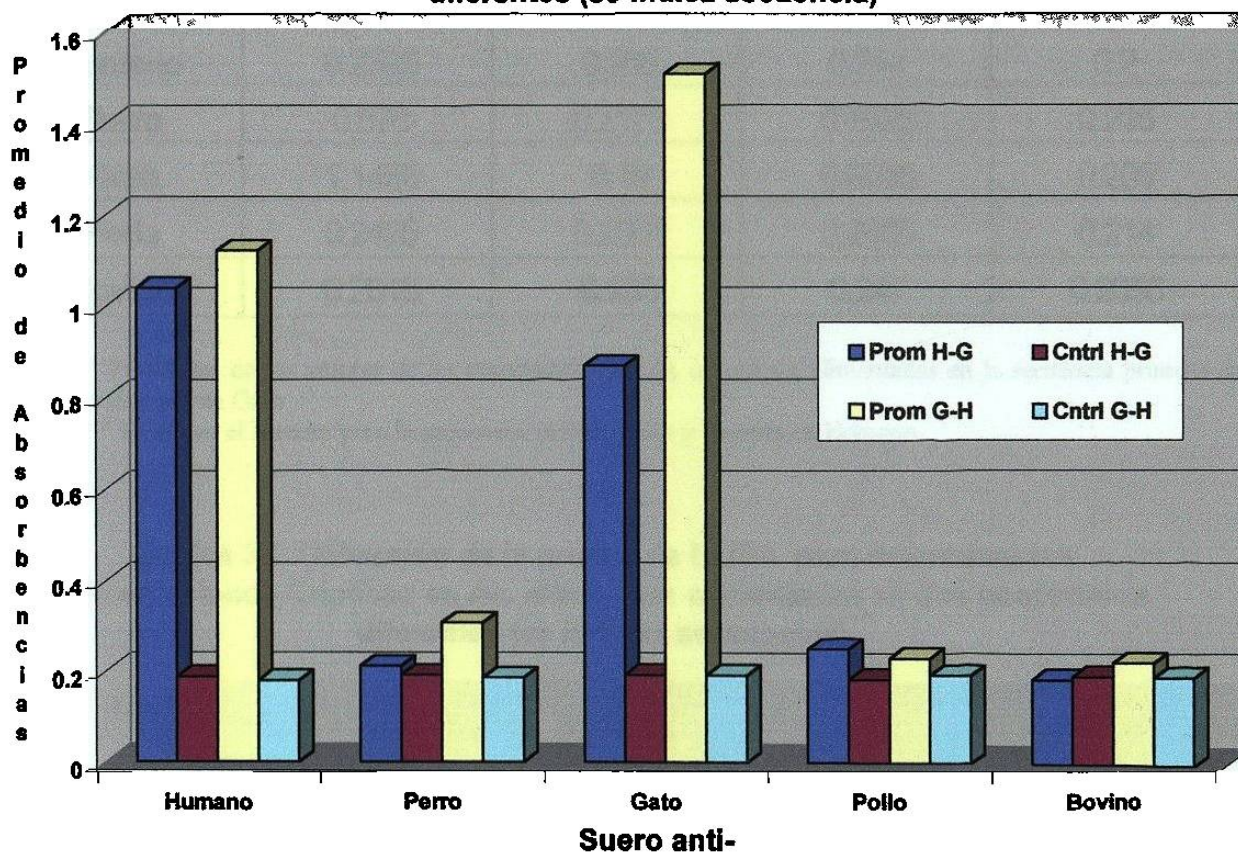


Se incluyen también las columnas de los controles para cada caso

Gráfica 3B. Utilización de la prueba de ELISA para determinar las alimentaciones crípticas en *Ae. albopictus* alimentadas en dos hospederos diferentes (se indica secuencia)



Estos resultados no concluyen de manera absoluta, que la secuencia sea la responsable de valores promedios mas elevados en las absorbancias, cuando las hembras de *Ae. albopictus*, se alimentan en un primer hospedero en el orden de alimentación. Definitivamente es necesario realizar un mayor numero de determinaciones, que aunque bastante laboriosas, pueden soportar mas los resultados. Por otro lado, se sugiere además, incluir otras combinaciones de hospederos, por ejemplo, los que faltaron de la serie de cinco que se trabajaron en esta tesis, (Pollo y Bovino, y de esta manera, completar la serie de este trabajo), e inclusive combinar estos últimos, con los que se realizaron las determinaciones en este proyecto (Humano, Perro y Gato).

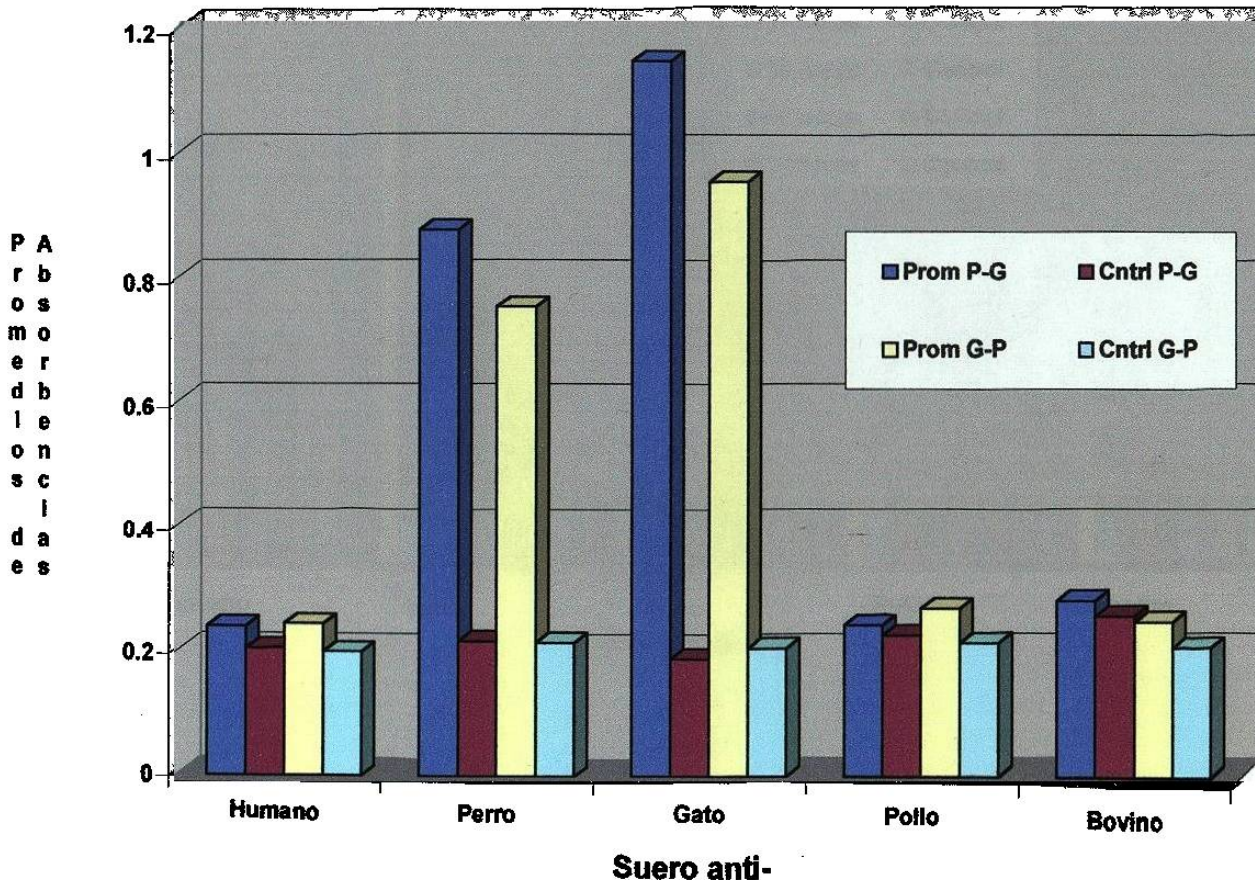
Tabla 3C. Utilización de la prueba de ELISA para investigar las alimentaciones en hembras de *Ae. albopictus* alimentadas primero en Perro, después en Gato y viceversa.

| Suero anti- | Prom P-G | Cntrl P-G | Prom G-P | Cntrl G-P |
|-------------|----------|-----------|----------|-----------|
| Humano | 0.2395 | 0.205 | 0.244 | 0.2 |
| Perro | 0.876 | 0.2175 | 0.7525 | 0.216 |
| Gato | 1.1465 | 0.19 | 0.9535 | 0.206 |
| Pollo | 0.2425 | 0.2265 | 0.2685 | 0.214 |
| Bovino | 0.2815 | 0.256 | 0.247 | 0.2055 |

* Promedios de los valores de las absorbancias en *Ae. albopictus* alimentadas en la secuencia primero en Humano y después en Gato

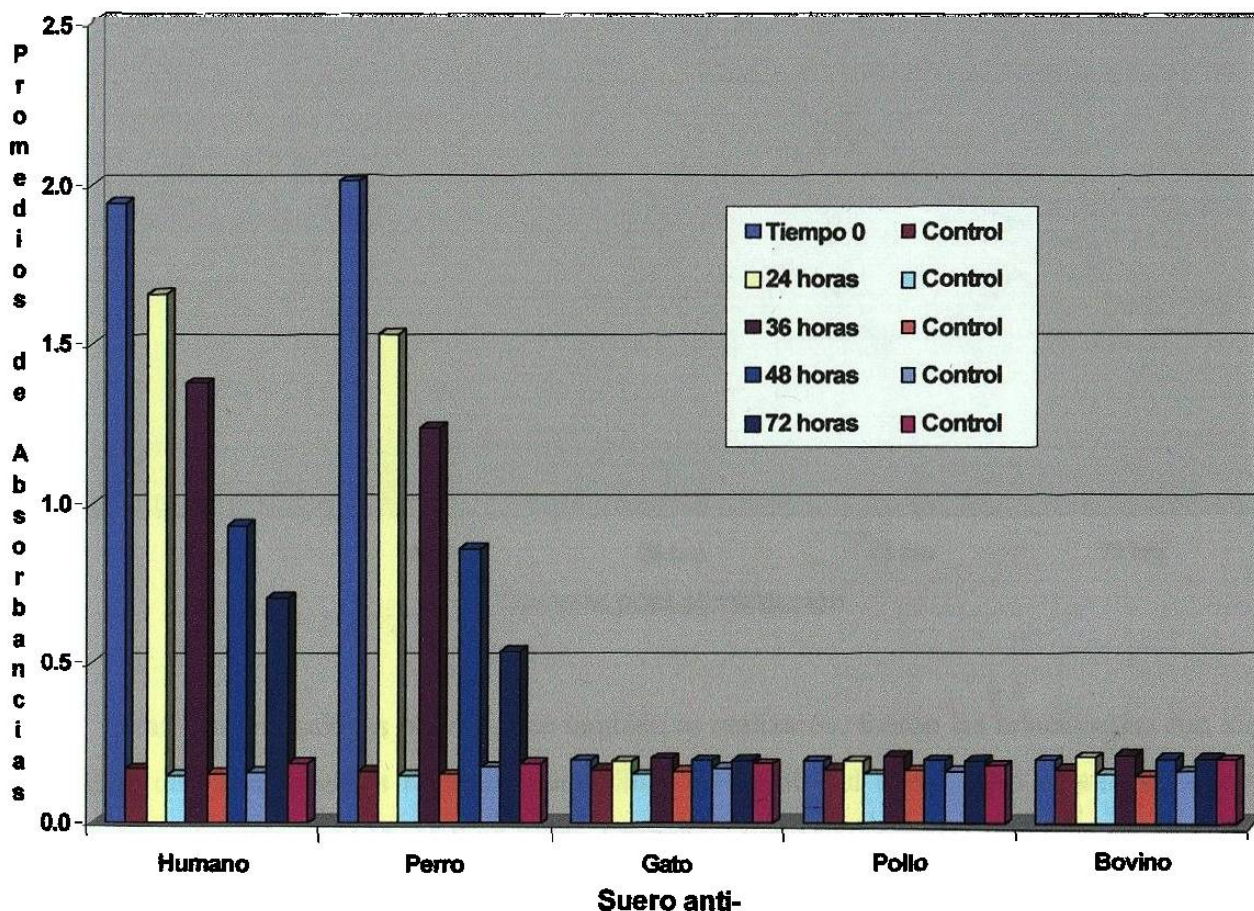
** Igual que el anterior pero la secuencia: primero gato y después en Humano.

Gráfica 3C. Utilización de la prueba de ELISA para determinar las Alimentaciones Críticas en *Ae. albopictus* alimentadas en dos hospederos diferentes (se indican secuencias)

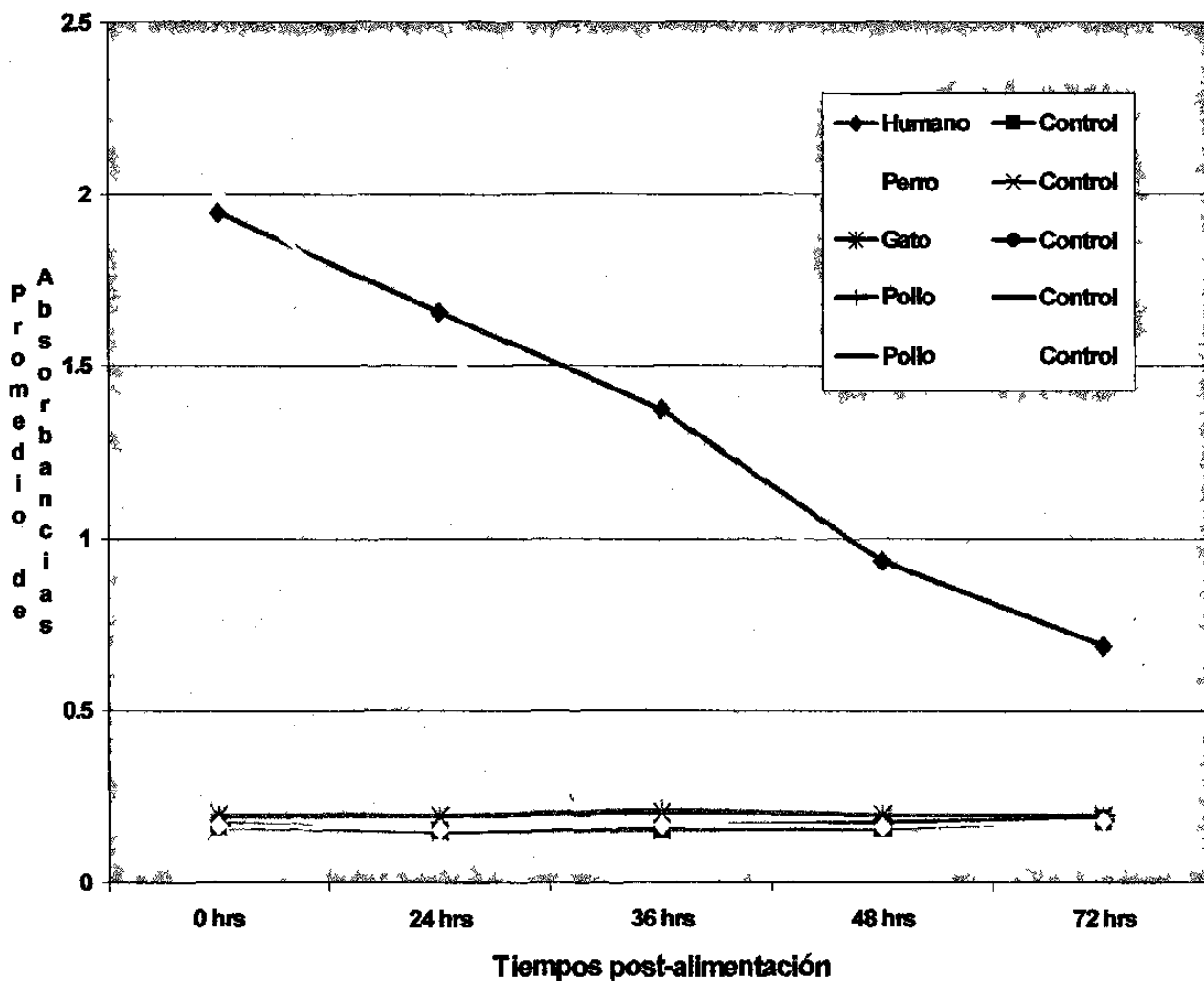


d). Hallazgo del tiempo post-alimentación ideal, utilizando la prueba de ELISA por medio de una curva de calibración (Absorbencia vs. Tiempo), para conocer el origen de la sangre contenida en los mosquitos. Los resultados de las pruebas de ELISA relacionados con este objetivo, en cierta manera fueron fraccionados, y no con la finalidad de sesgar de alguna manera los mismos, sino que, inicialmente se realizaron determinaciones con una dilución de 1:10 de la sangre humana, que fue la única fuente de alimentación de las hembras de *Ae. albopictus* para este objetivo, además de que también se hicieron las mediciones a solo 4 tiempos después de la alimentación (24, 36, 48 y 72 horas. Gráficas de barras y curvas 4A y 4AI).

Grafica 4A. Pruebas de ELISA con *Ae. albopictus* alimentadas con sangre humana (dil. 1:10) a cuatro tiempos diferentes post-alimentación

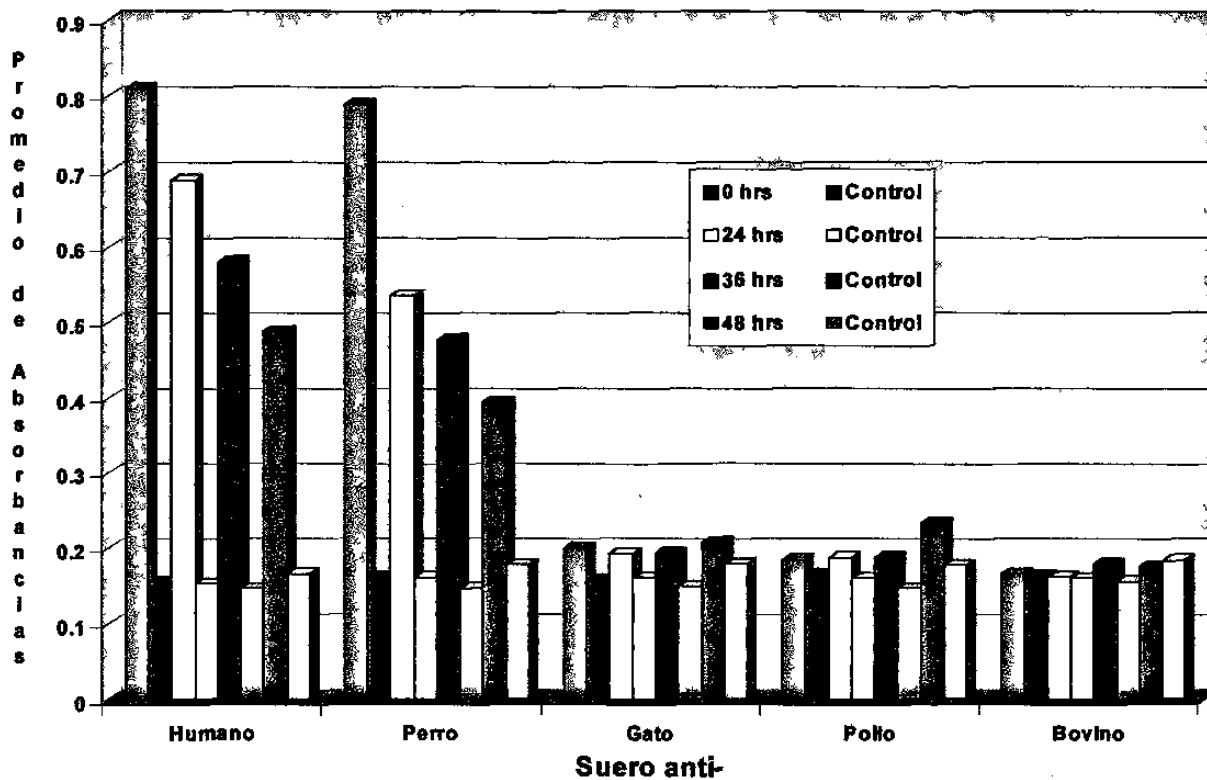


Grafica 4AI. Pruebas de ELISA con *Ae. albopictus* alimentadas con sangre humana (dil. 1:10) cuatro tiempos diferentes post alimentación

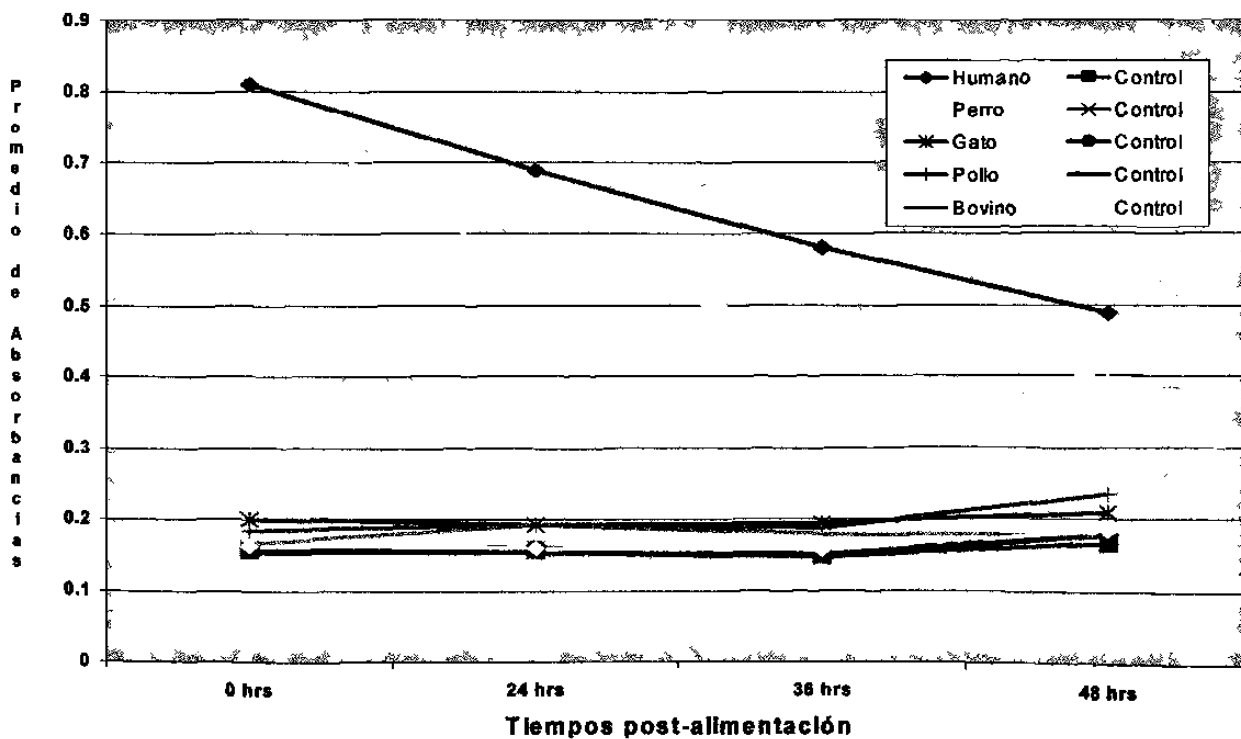


Otras determinaciones previas, que también se realizaron, fueron las relacionadas con los promedios de varias pruebas realizadas con diluciones 1:50 del suero, pero solamente a tres tiempos post-alimentación (24, 36 y 48 horas. Gráficas y curvas 4B y 4BI).

Grafica 4B. Pruebas de ELISA con *Ae. albopictus* alimentadas con sangre humana (dil. 1:50) a tres tiempos diferentes post-alimentación

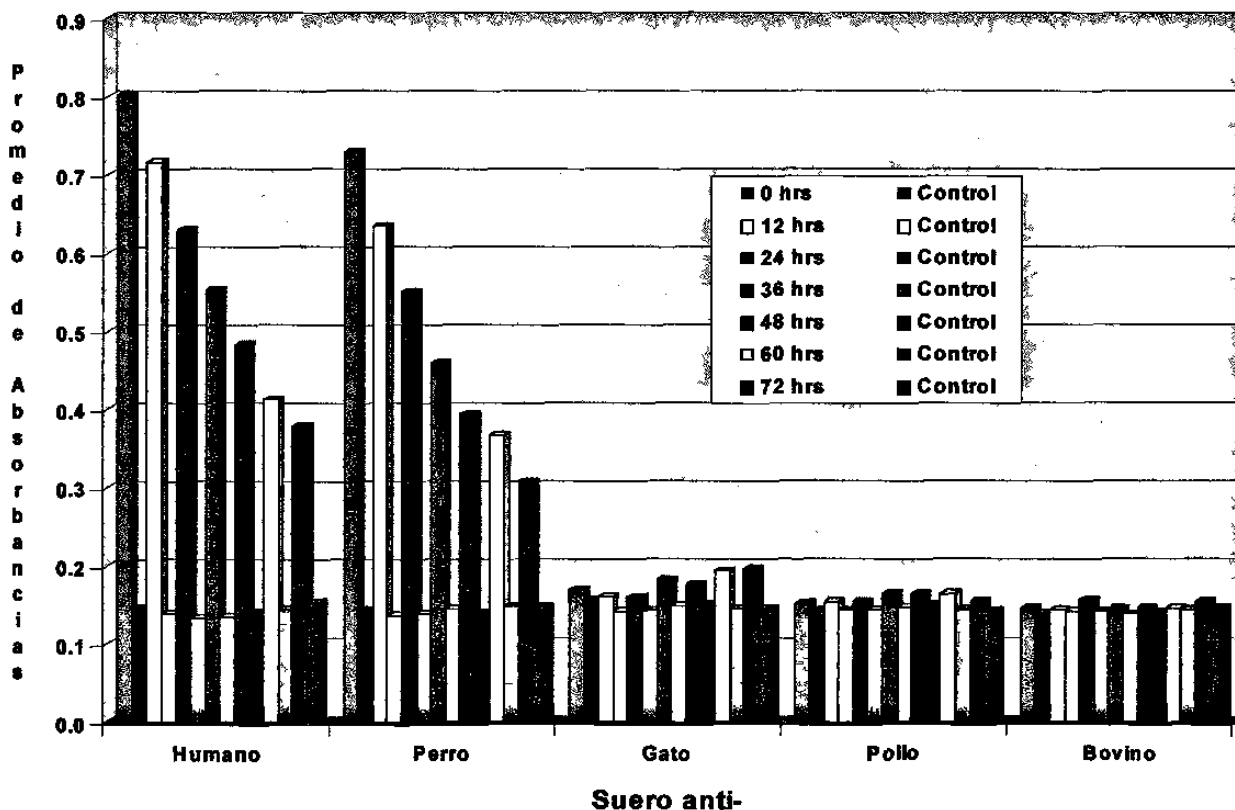


Grafica 4BI. Pruebas de ELISA con *Ae. albopictus* alimentadas con sangre humana (dil. 1:50) a tres tiempos diferentes post-alimentación



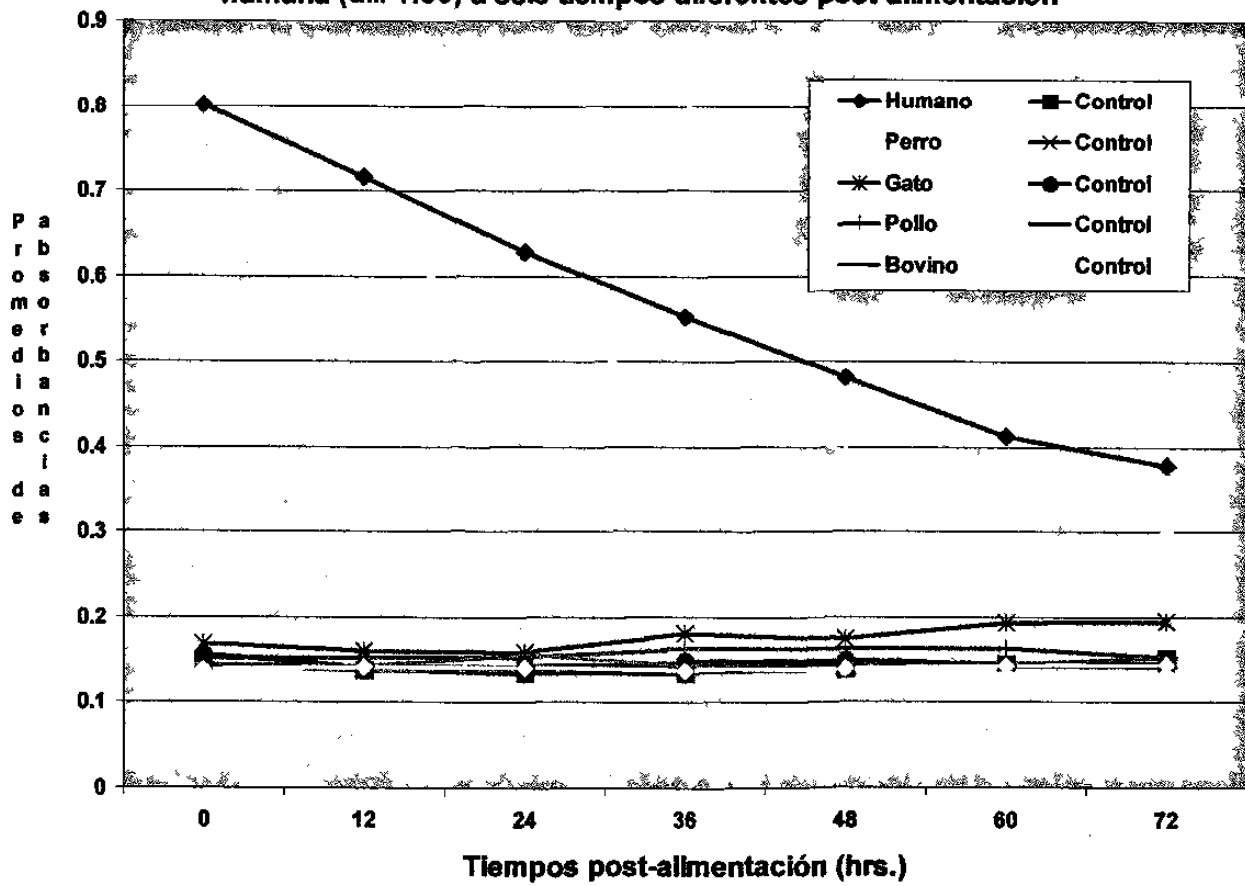
Pero los resultados obtenidos a seis tiempos post-alimentación (12-72 horas) se muestran en las Gráficas de barras y de curvas 4C y 4CI). Se puede observar en estas figuras que todavía hasta las 72 horas el valor de las absorbancias, fue del doble, en comparación con los promedios de los controles, resultados que en las prácticas de campo serán de gran ayuda para conocer aquellos animales que se pudieran involucrar como reservorios (vertebrados) en la diseminación de una infección transmitida por mosquitos, por ejemplo el dengue o alguna otra arbovirosis.

Grafica 4C. Pruebas de ELISA con *Ae. albopictus* alimentadas con sangre humana (dil. 1:50) a seis tiempos diferentes post-alimentación



Lo que se observa, es que independientemente de las “restricciones” señaladas, el comportamiento fue similar al que se presentó en los resultados de los otros Objetivos de esta investigación, que existe una falta o de pureza en los antisueros, o bien existe algo en común con la sangre del perro, porque como ya se indicó, la única sangre empleada como alimento fue de origen humano y sin embargo al hacer las pruebas correspondientes con los antisueros de perro, gato, pollo y bovino, existen resultados muy parecidos a los del antisuero humano que son los **Positivos Verdaderos**, mientras que los del antisuero de Perro vienen a ser **Falsos Positivos** (Gráfica de barras y de curvas 4A hasta 4CI).

Grafica 4Cl. Pruebas de ELISA con *Ae. albopictus* alimentadas con sangre humana (dil. 1:50) a seis tiempos diferentes post-alimentación



IX. CONCLUSIONES Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El realizar los cálculos para obtener los valores porcentuales relacionados con la Sensibilidad y la Especificidad de la prueba de ELISA (**Objetivo a**). **Evaluar la Sensibilidad y Especificidad de la prueba de ELISA-Sandwich, con *Aedes albopictus* criados en el laboratorio y alimentados con sangre de 5 hospederos diferentes (Humanos, perros, gatos, bovinos y pollos)**, fue muy importante, porque solo de esta manera fue posible continuar con la investigación y así obtener los valores de 100%, tanto para la Sensibilidad, como para la Especificidad, los que definitivamente demuestran, que esta prueba es muy útil para trabajar con muestras biológicas, en el caso de nuestra investigación, la sangre contenida en las hembras de *Aedes albopictus*, aún cuando las cantidades sean extremadamente pequeñas (Sensibilidad), y por otra parte, también sirve para proporcionarnos datos relacionados con la procedencia, el origen de esta muestra, porque como podemos observar en los resultados obtenidos, se logró conocer, la sangre con la cual el mosquito se había alimentado (En nuestro estudio, solamente utilizamos 5 antisueros contra los hospederos correspondientes).

Si por medio de la prueba de ELISA-Sandwich, podemos conocer, con la ayuda de todos los materiales necesarios, de que organismo se alimentó un mosquito, en el futuro, se puede utilizar esta técnica, para relacionarla con algún agente infeccioso sea parásito, virus o bacteria, y conocer así, cual fue el animal que sirvió de reservorio y simultáneamente es responsable de multiplicar dichos patógenos.

También es importante mencionar, que entre los objetivos, no estaba contemplado el realizar la investigación para encontrar, la dilución óptima que se tenía que hacer de los trozos de papel filtro, en donde se presionaron los abdómenes de los mosquitos alimentados con la sangre de los hospederos mencionados. La realización de estas determinaciones, fue de gran ayuda para cumplir con el resto de los objetivos de este proyecto de tesis.

Aún cuando la prueba de ELISA que se utilizó en este estudio, no fue como la reportada en la literatura, en la cual utilizaron un complejo de Peroxidasa Estreptovidina-Biotinizada, (Hunter y Bayley en 1991) para identificar el origen de la sangre en simúlidos, la empleada por nosotros,

con hembras de *Aedes albopictus*, criadas en el laboratorio y capturadas en el campo, también mostró una Sensibilidad y Especificidad de 100%, además de detectar de que animal procedía.

A diferencia de otros resultados publicados (Chow y cols. 1993) en nuestro estudio, si se logro detectar el origen de las alimentaciones sanguíneas después de 72 horas de ingerida por las hembras de *Aedes albopictus*. De todos los antecedentes, los trabajos realizados con *Aedes albopictus*, en los que también utilizaron la prueba de ELISA-Sandwich para conocer las preferencias alimenticias de estos mosquitos (Niebylski y cols. 1994), fueron los que más ayuda nos proporcionaron y con los cuales encontramos mas semejanza en nuestros resultados, aunque este estudio se haya realizado principalmente en campo, mientras que el nuestro fue principalmente experimental, por lo que resultó bastante laborioso.

Con relación al objetivo b). Determinar el origen de las alimentaciones sanguíneas en *Aedes albopictus* capturados en algunos criaderos importantes del país (Matamoros y Reynosa, Tamps.) inicialmente planteado en nuestro proyecto de tesis, los resultados obtenidos mostraron que la prueba de ELISA fue capaz de detectar la sangre de diferentes hospederos en las hembras capturadas en los diferentes criaderos de las ciudades de Tamaulipas mencionadas, de manera tal que inclusive se complementan los resultados de otros de los objetivos, porque aquí se encontraron también alimentaciones múltiples.

En los antecedentes revisados, los trabajos de Scott y cols. realizados en 1993 con *Aedes aegypti* en Tailandia, de los 1230 mosquitos capturados, solamente el 7% mostraron alimentaciones dobles y triples. En el caso nuestro, en la época en que se realizó la captura, México atravesó por una enorme temporada de sequía y si hubo captura de una buena cantidad de mosquitos, pero de ellos, sólo una mínima parte fueron *Ae. albopictus* que mostraron haber ingerido, el resto eran *Ae. aegypti* en su mayoría, *Culex sp.* así como de otros géneros.

Los hospederos más importantes que sirvieron de alimento para *Aedes albopictus* de los 6 capturados en Reynosa y que logramos detectar fueron: humanos y perros en, así como bovino en dos de ellos, pero como fuente de alimentación única. El sexto mosquito, aunque mostraba la presencia de sangre, la prueba de ELISA, no nos proporcionó lectura para ninguno de los 5 antisueros que se probaron (contra humano, perro, gato, pollo y bovino) lo que plantea la posibilidad que se haya alimentado de otra variedad de ave o de un roedor.

De los 8 mosquitos capturados en Reynosa, de nueva cuenta, la prueba de ELISA, sirvió para detectar cinco alimentaciones dobles y el resto son para un solo hospedador.

En lo que se refiere al objetivo c). **Investigar la capacidad del ensayo Inmuno-Enzimático, para distinguir las alimentaciones crípticas (sangre ingerida por las hembras de los mosquitos procedentes de 2 ó más hospederos).** Los resultados muestran una buena definición de la prueba de ELISA y son similares al los que se obtuvieron en el objetivo anterior, porque aunque en esta ocasión las alimentaciones son experimentales, porque los mosquitos criados en el laboratorio se alimentaron con la sangre de dos hospederos y de nueva cuenta la única combinación que crea confusión es la relacionada con la sangre de humano y de perro, mientras que las combinaciones de sangre de humano con gato y la de éste último con la perro si muestran resultados bastante claros.

Por último, el objetivo d) **Buscar por medio de una curva de calibración (Absorbencia vs. Tiempo), el tiempo post-alimentación ideal, para conocer el origen de la sangre contenida en los mosquitos, utilizando la prueba de ELISA.** Los resultados obtenidos fueron satisfactorios, en el sentido de que la prueba de ELISA, tanto en las pruebas preliminares (solamente a cuatro tiempos) como en las finales, con intervalos de doce horas cada una y durante 72 horas, mostraron una disminución con el paso del tiempo, indicando de esta manera, que todavía se pueden considerar como tiempos ideales para realizar esta determinación del origen de la sangre ingerida por *Ae. albopictus* son los comprendidos entre el momento de la alimentación hasta las 72 horas, debido a que los resultados, todavía muestran valores al doble de los obtenidos del promedio de los controles y de esta manera considerarlos positivos. Determinaciones a tiempos post-alimentación mayores a las 72 horas no se realizaron.

En la validación de la prueba de ELISA utilizando los parámetros de Sensibilidad y Especificidad, se encontraron resultados interesantes con respecto a las determinaciones en las hembras alimentadas con sangre humana y de perro. Esto en cierta manera se refleja en prácticamente todos los experimentos realizados. Por ejemplo, desde el principio, al realizar las diluciones de los trozos de papel filtro impregnados con sangre, los valores de la Sensibilidad, dan un 100%, estos indican que la prueba es capaz de detectar una característica real, verdadera; en este caso los anticuerpos del antisuero si funcionan contra los antígenos. En otras palabras, por medio de la fórmula empleada, se calculan valores numéricos de los positivos verdaderos por encima de los falsos negativos (Tablas 1, 2 y 3)

En cambio, cuando se calcula la Especificidad, los valores correspondientes van desde un 0% (para la dilución de 1:10), hasta un 100% (para la que corresponde a 1:80). Se recuerda, que esto es solamente, para el caso de la sangre humana y la de perro. Aquí, la situación se invierte con relación a la Sensibilidad, porque, por medio de la ecuación utilizada, ahora se detectan los negativos verdaderos sobre los falsos positivos. De una manera comparativa con la Sensibilidad, esto significa, que el valor de este parámetro de la Especificidad, nos ayuda a diferenciar entre las diferentes "sangres" que sirvieron de alimento a las hembras de *Aedes albopictus*. Los anticuerpos del antisuero producidos en un animal, reconocen el antígeno específico, que proporciona la sangre del animal o bien del hombre, contra quienes fueron producidos.

¿Cómo interpretar los resultados particulares de esta investigación? Sobre esto, lo primero que se puede pensar, es que la pureza del antisuero humano nos es muy buena, por lo cual se produce una reacción cruzada con la sangre del perro (antisueros purificados de cabra marcados con peroxidasa Kirkegaard and Perry: a) Anti-pollo (H+L), b) Anti-humano, c) Anti-perro, d) Anti-bovino y e) Anti-gato). Por los controles de calidad tan estrictos, que rigen en los laboratorios de producción de estos reactivos, esta posibilidad es muy remota.

Surge otra pregunta: ¿Por qué poner en duda solamente de la pureza del antisuero humano y no la que corresponde al perro? Concretamente, porque, cuando las hembras de los mosquitos fueron alimentadas sobre un perro, se encontró un valor de 100% para la Especificidad. Sin embargo, entre las hembras silvestres capturadas en Reynosa, hay dos resultados obtenidos en los Mosquitos 2 y 7, en los cuales no se encontró el posible "cruce" detectado en la mayoría de las determinaciones (Tabla 3) lo que en cierta manera descarta, que el antisuero de humano, no tuviera la pureza necesaria para realizar estas diferenciaciones.

La otra situación que también se debe plantear, es la existencia de regiones antigénicas a nivel molecular, que sean comunes entre el hombre y el perro. Sin embargo, esta situación sugiere estudios más profundos, que en la actualidad, con ayuda de las técnicas de Biología Molecular, pueden descartar o bien confirmar, esta posibilidad filogenética y evolutiva.

Una tercera posibilidad sería, una manipulación deficiente de los materiales y equipo al momento de realizar las determinaciones. Sin embargo, sobre este punto en particular, es pertinente comentar, las medidas extremas que se implementaron en todos los experimentos

(cambio de las puntas de las micropipetas, preparación de las soluciones a las concentraciones requeridas, espacios limpios, tiempos justos entre cada determinación, lavados, marcaje de los trozos de papel filtro, etc.).

Esta situación, deja la duda con relación a los resultados de la sangre de humano y de perro en particular, por lo que se sugiere realizar mas estudios, con la inclusión de técnicas comparativas de Biología Molecular como la utilización de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y de otras técnicas bioquímicas como la electroforesis y algunas de sus variantes. Investigaciones que de manera idónea pueden realizar, por el perfil de la carrera, cualquier egresado de una carrera de Química.

En lo que se refiere a los antisueros de los otros hospederos utilizados (pollo, gato y bovino), no se presento la misma situación.

X. LITERATURA CITADA

- Bancroft, T.L. 1906. On the etiology of dengue fever. Aust. Med. Gaz. (Sidney)). 25, 1.
- Beaty, J.B., Trent, W.D. y cols. 1988. Virus Variation and Evolution: Mechanisms and Epidemiological Significance in the Arboviruses: Epidemiology and Ecology. CRC Press; Vol. I, 60-81.
- Beier, J.C. y J.K Koros. 1991. Visual assesment of sporozoite and bloodmeal ELISA samples in malaria fields studies. J. Med. Entomol. 28(6): 805-808.
- Beier, J.C., P.V. Perkins, R.A. Wirtz, J. Koros, D. Diggs, T.P. Gargan y D.K. Koech, 1988. Bloodmeal identification by direct Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) from Kenya. J. Med. Entomol. 25(1): 9-16.
- Beier, J.C., R.S. Kopeland, F.J., Onyango, C.M., Asiago, M. Ramadhan, D.K. Koech y C.R. Roberts. 1991. *Plasmodium* species identification by ELISA for sporozoites removed from dried dissection slides. J. Med. Entomol. 28(4): 533-536.
- Berry, R.L., E.D. Peterson y R.A. Restifo. 1988. Records of imported mosquitoes in Ohio. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 4(2): 187-189.
- Comiskey, N. y D.M. Wesson. 1995. *Dirofilaria* (Filaroidea: Onchocercidae) infection in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) collected in Louisiana. J. Med. Entomol. 32(5): 734-737.
- Craven, R.V., D.A. Eliason, D.B. Francy, P. Reiter, E.G. Campos, W.L. Jacob, G.C. Smith, C.J. Bozzi, C.J. Moore, G.O. Maupin y T.P. Monath. 1988. Importation of *Aedes albopictus* and other exotic mosquito species into the United States in used tires from Asia. J. Amer. Mosq. Control Assoc 4(2): 138-142.
- Chow, E., R.A. Wirtz y T.W. Scot 1993. Identification of Bloodmeals in *Aedes aegypti* by antibody sandwich Enzyme Linked Immunosorlent Assay. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 9(2): 196-205.
- Dalla Poza, G.L., R. Romi y C. Severini. 1994. Source and spread of *Aedes albopictus* in the Veneto region of Italy. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 10(4): 589-592.

- Darsie Jr. y F. Richard. 1981. Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, North of Mexico. Supplements to Mosquito Systematics 1:1-313. American Mosquito Control Association.
- De Colmenares, M. M. Portus, J. Botet, C. Dobaño, M. Gallego, M. Wolff y G. Seguí. 1995. Identification of Blood meals in *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae) in Spain by a new competitive method of ELISA Biotin-Avidin. J. Med. Entomol. 32(3): 229-233.
- Fernández, S.I., D.R. Roberts, M.H. Rodríguez, M.C. Rodríguez y C.F. Marina Fernández. 1993. Host selection patterns of *Anopheles pseudopunctipennis* under insecticide spraying situations in southern Mexico. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 9(4): 375-384.
- Graham, H. 1903 The dengue. A study of its pathology and mode of propagation. J. Trop. Med. (London). 6, 209.
- Gómez Dantés, H. 1992. Monografía sobre la Epidemiología del Dengue. Secretaría de Salud/ Dirección General de Epidemiología. Ed. América, México. Pags. 1-57.
- Gubler, D.J. 1988. Vertebrate Host Ecology in the Arboviruses: Epidemiology and Ecology. CRC Press; Vol. II, 240-242.
- Gubler, D.J., W. Suharyomo, I. Lubis, S. Eram y S. Gunarso. 1981. Epidemic dengue 3 in Central Java, associated with low viremia in man. Am. J. Trop. Med. Hyg. 30(5), 1094-1099.
- De Xue, R., J.D. Edman y T.W. Scott. 1995. Age and body size effects on meals size and multiple feeding by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 32(4): 471-474.
- Hagen, H.E. y J. Grunewald. 1990. Routine blood feeding of *Aedes aegypti* via a new membrane. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 6(3): 535-536.
- Halstead H.S. y J.S. Porterfield. 1980. Enhancement of dengue virus infections in monocytes by flavivirus antisera. Am. J. Trop. Med. Hyg. 29(4): 638-642.
- Hanson, S.M. y G.B. Craig Jr. 1995. *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) eggs: Field survivorship during northern Indiana winters. J. Med. Entomol. 32(5): 599-604.

- Hawley, W.A. 1988. The biology of *Aedes albopictus*. J. Amer. Mosq. Control Assoc. (Suplemento Vol. 4)
- Hawley, W.A., P. Reiter, R.S. Copeland, C.D. Pumpini y G.B. Craig Jr. 1987. *Aedes albopictus* in North America: Probable introduction in used tires from Northern Asia. Science 236:1114-1116.
- Herrera Basto, E. 1989. Situación actual del Dengue en México. IV Simposio Nacional de Entomología Médica y Veterinaria, SME: 1-13.
- Hornby, J.A., D.E. Moore y T.W. Miller Jr. 1994. *Aedes albopictus* distribution, abundance and colonization in Lee County, Florida and his effect on *Aedes aegypti*. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 10(3): 397-402.
- Hunter, F.F. y R. Bayly. 1991. ELISA for identification of blood meal source in black flies (Diptera: Simuliidae). J. Med. Entomol. 28(4): 527-532.
- Ibañez B,S. y C. Martínez Campos 1994. *Aedes albopictus* in México. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 10(2): 231-232.
- Konishi, E. 1989. Size of blood meals of *Aedes albopictus* and *Culex tritaeniorhynchus* Diptera: Culicidae) feeding on an unrestrained dog infected with *Dirofilana immitis* (Spirurida: Filariidae). J. Med. Entomol. 26(6): 535-538.
- Knudsen, A.B. 1986. The significance of the introduction of *Aedes albopictus* into the southern United States with the implications for the Caribbean, and perspectives of the Pan American Health Organization. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 2(4): 420-423.
- Lee, M y Ch. Lambros. 1988. The ELISA U: An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay using Urease as the enzyme marker for rapid detection of *Plasmodium falciparum* antibody in human serum. Am. J. Trop. Mcd. Hyg. 39(5): 421-426.
- Mac Mahon, B. y T.F. Pugh. Principios y Métodos de Epidemiología. Capítulo 12 "Estudios de casos y testigos". La Prensa Médica Mexicana, S.A. de C.V. Décima Reimpresión. 1988. Pág. 223-261.

- Martínez M., J.P. 1995. Ecología larvaria de *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) en tres municipios del Noroeste de México. Tesis de Maestría en Ciencias con Especialidad en Entomología Médica de la F.C.B. de la U.A.N.L.
- Mausner, J.S. y S. Kramer. Epidemiology-An Introductory Text. Chapter 9 "Screening in the detection of disease". W.B. Saunders Company. Second Edition 1985.Pags. 214-238.
- Moore, C.J. 1986. The Centers of Disease Controls perspective of introduction of *Aedes albopictus* into the United States. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 2(4): 416-417.
- Moore, C.J., D.B. Francy, D.A. Eliason y T.P.Monath. 1988. *Aedes albopictus* in the United States: Rapid spread of a potencial disease vector. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 4(3): 356-361.
- Moore, C.J., D.B. Francy, D.A. Eliason, R.E. Bailey y E.G. Campos. 1990. *Aedes albopictus* and other container-inhabiting mosquitoes in the United States: Results of an eight-city survey. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 6(2): 173-178.
- Niebylsky, M.L. y G.B. Craig Jr. 1994. Dispersal and survival of *Aedes albopictus* at a scrap tire yard in Missouri. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 10(3): 339-343.
- Niebilsky, M.L., H.M. Savage, R.S. Nasci y G.B. Craig Jr. 1994. Blood hosts of *Aedes albopictus* in the United States. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 10(3): 447-450.
- O'Meara, G.F., L.F. Evans Jr., A.D. Gettman y J.P. Cuda. 1995. Spread of *Aedes albopictus* and decline of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Florida. J. Med. Entomol. 32(4): 554-562.
- OPS. 1992. El Control de las Enfermedades Transmisibles en el Hombre. Publicación Científica No. 538.
- Peacock, B.E., J.P. Smith, P.G. Gregory, T.M. Loyless, J.A. Muirennen Jr., P.R. Simmonds, L. Padgett Jr., E.K. Cook y T.R. Eddins. 1988. *Aedes albopictus* in Florida. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 4(3): 362-365.
- Reihle, T.M. 1989. Classification, distribution and importance of arboviruses. Trop. Med. Parasit. 40.

- Reiter, P. y D. Sprenger. 1987. The used tire trade: A mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* 3(3): 494-501.
- Rodríguez T., M.L. y M.G. Ortega Martínez. 1994. *Aedes albopictus* in Múzquiz City, Coahuila, México. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* 10(4): 587.
- Rosen, L. 1977. The emperor's new clothes revisited or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 26, 337.
- Rosen, L. 1987. Sexual transmission of Dengue Viruses by *Aedes albopictus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 37(2): 398-402.
- Rudnick, A. 1978. Ecology of dengue virus. *Asian J. Infect. Dis.* 2, 337.
- Rush, B. 1989. An account of the bilious remitting fever, as it appeared in Philadelphia in the summer and autumn of the year 1800. In *Medical Inquiries and Observations*. Prichard & Hall, Philadelphia. 104.
- Sabin, A.B. 1952. Research in dengue during World War II. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1: 130.
- Sasaki, H., E.K. Kang'Ethe y H.F.A. Kaburia, 1995. Blood meals sources of *Glossina pallidipes* and *Glossina longipennis* (Diptera: Glossinidae) in Nguruman, Southwest Kenya. *J. Med. Entomol.* 32(3): 390-393.
- Sato, Ch., Y. Furuya, M. Harada, y S. Sugun. 1992. Identification of human blood meal in mosquitoes (Diptera: Culicidae) using nonradioactive DNA dot blot identification. *J. Med. Entomol.* 29(6): 1045-1048.
- Savage, H.M., H.F. Duncan, D.R. Roberts y L.L. Sholdt. 1991. A dipstick ELISA for rapid detection of human blood meals in mosquitoes. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* 7(1): 16-23.
- Scott, T.W. 1988. Vertebrate Host Ecology, in the Arboviruses: Epidemiology and Ecology. CRC Press; Vol. , 258-275.
- Scott, T.W., E. Chow, D. Strickman, P. Kittayapong, R.A. Wirtz, L.H. Lorenz, y J.D. Edman. 1993. Blood feeding patenis of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) collected in a rural

- Thai village. J. Med. Entomol. 30(5): 922-927.
- Scott, T.W., G.G. Clark, L.H. Lorenz, P.H. Amerasinghe, P. Reiter y J.E. Edman. 1993. Detection of multiple blood feeding in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) during a single gonotrophic cycle using a histologic technique. J. Med. Entomol. 30(1): 94-99.
- Sprenger, D. y T. Withirnyagool. 1986. The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris County, Texas. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 2(2): 217-219.
- Sulaiman, S. y J. Jeffery. 1994. Field studies on populations of *Aedes albopictus* and *Toxorhynchites* species in bamboo pots in Malasia. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 10(3): 460-461.
- Sweeney, K.J., M.A. Cantwell y J. Dorothy. 1988. The collection of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Baltimore, Maryland. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 4(3): 381-382.
- 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(6): 635.
- Verhave, J.P., A.D.E.M. Leewenberg, T. Pondurai, J.H.Eth Meuwissen y J.A.M. Van Druten. 1988. The Biotin-Streptavidin System in a two site ELISA for the detection of plasmodial sporozoite antigen in mosquitoes. Parasite Immunology 10:17-31.
- Washino, R.K. y C.H. Tempelis. 1983. Mosquito host blood meal identification: Methodology and analysis. Ann. Rew. Entomol. 28:179-201.
- Womack, M.L. 1993. Distribution, abundance, and bionomics of *Aedes albopictus* in Southern Texas. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 9(3): 367-369.

0146164

XL ANEXOS
TABLAS Y FIGURAS

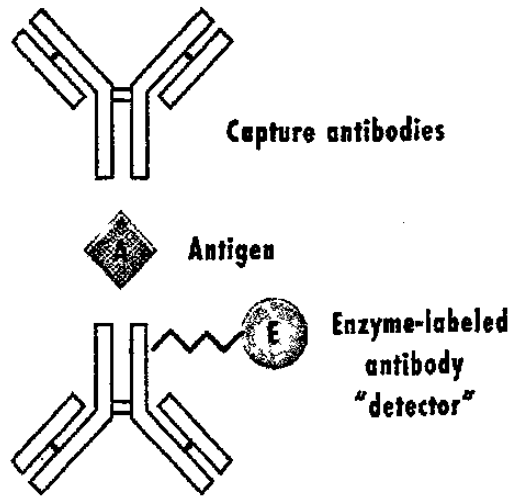
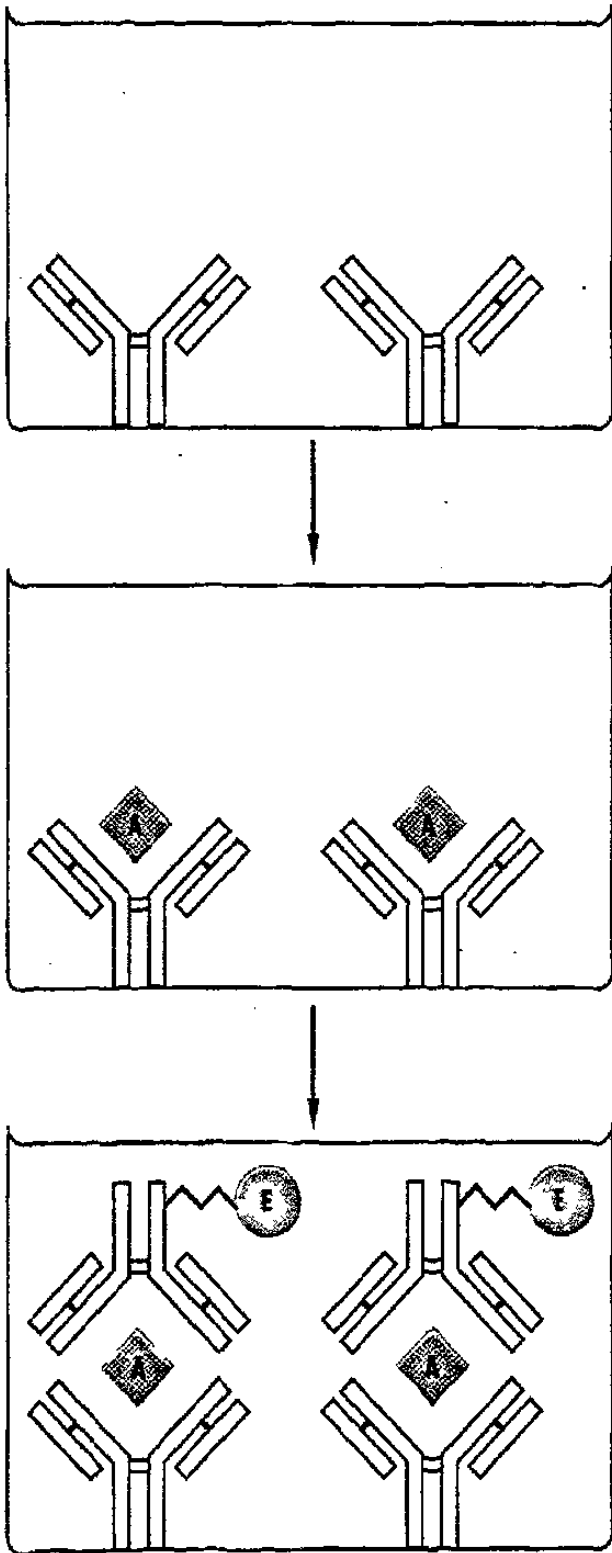


Tabla 1. Sensibilidad y Especificidad de la Prueba de ELISA-Sandwich con *Aedes albopictus* criados en el laboratorio, alimentados con sangre de cinco hospederos y diluciones diferentes

| | | DILUCIONES | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|-----|------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
| | | 1:10 | | 1:20 | | 1:30 | | 1:40 | | 1:50 | | 1:60 | | 1:70 | | 1:80 | |
| | | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** |
| HOSPEDERO | | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** | * | ** |
| HUMANO | 100 | 0 | 100 | 25 | 100 | 50 | 100 | 75 | 100 | 75 | 100 | 75 | 100 | 75 | 100 | 75 | 100 |
| PERRO | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 0 |
| GATO | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 0 |
| POLLO | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 0 |
| BOVINO | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 0 |

* Valores de Sensibilidad expresados en porcentajes

** Valores de Especificidad expresados en porcentajes

