

Capítulo 1

Introducción General.

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 ornitofílico *Cx. pipiens* Linnaeus. Más aún, el brote en humanos ocurrió en siete sitios urbanos cercanos a tierras húmedas donde se concentraban aves migratorias, mosquitos ornitofílicos y humanos (RTV, 2000).

La mayoría de las infecciones humanas de VON 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 (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 anticuerpo 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 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 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 brachyrhynchos* (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 ornitofílico *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 epizootica 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. univittatus* 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 pájaros 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).

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*.
- 2.- 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 casos 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.com.ar/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 Parasitology*. 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. Fernández- 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 North 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 preliminar 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 Larvianas de mosquitos de Importancia en Salud Pública en el área Metropolitana de Monterrey, N.L.* Tesis de Maestría en Entomología Médica. Inédita. Facultad de Ciencias Biológicas, U.A.N.L. San Nicolas de los Garza, Nuevo León. 77pp

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 233-235
- 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.

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 Knigh y Stone, (1973); Beaty y Marquardt, (1996).

Descripción de *Cx. p. quinquefasciatus*

Hembra adulta: Presenta las bandas basales blancas de los terguitos abdominales ligeramente unidas o enteramente desconectados a los parches laterales. Especies de tamaño mediano. Cabeza: proboscis con escamas oscuras; palpos cortos, oscuros. 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 curvadas (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-oscuras; manteniéndose los terguitos con escamas oscuras 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 oscuras 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 oscuras (Carpenter, 1955).

Macho adulto: Coloración similar a la de la hembra pero tiene las bandas basales 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, curvado 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 múltiples (5 o más ramificaciones) con púas; preantenal 7 largo, múltiple y con púas. Pelos protorácicos: 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*.

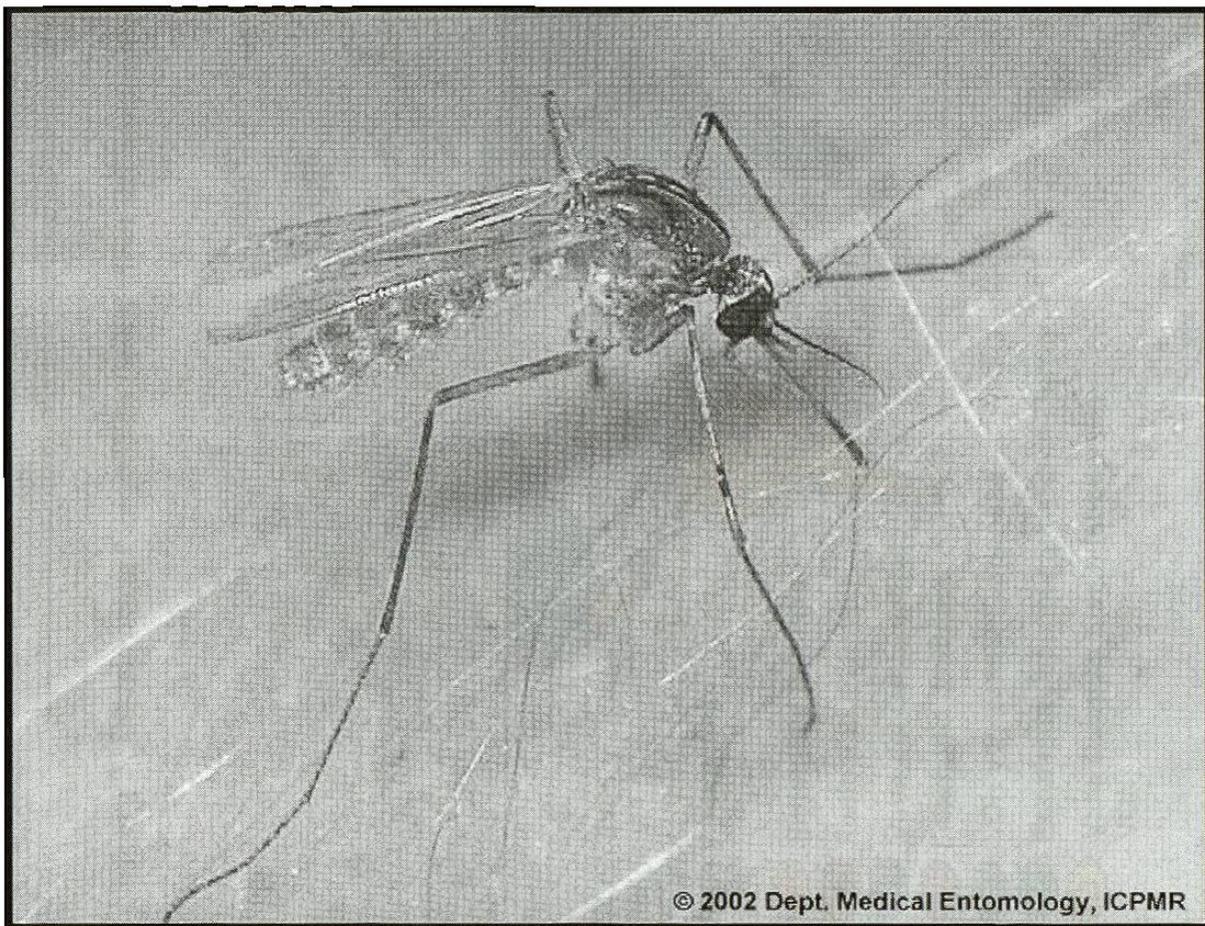


Figura 3. Distribución Geográfica de los virus del Serocomplejo Encefalitis Japonesa

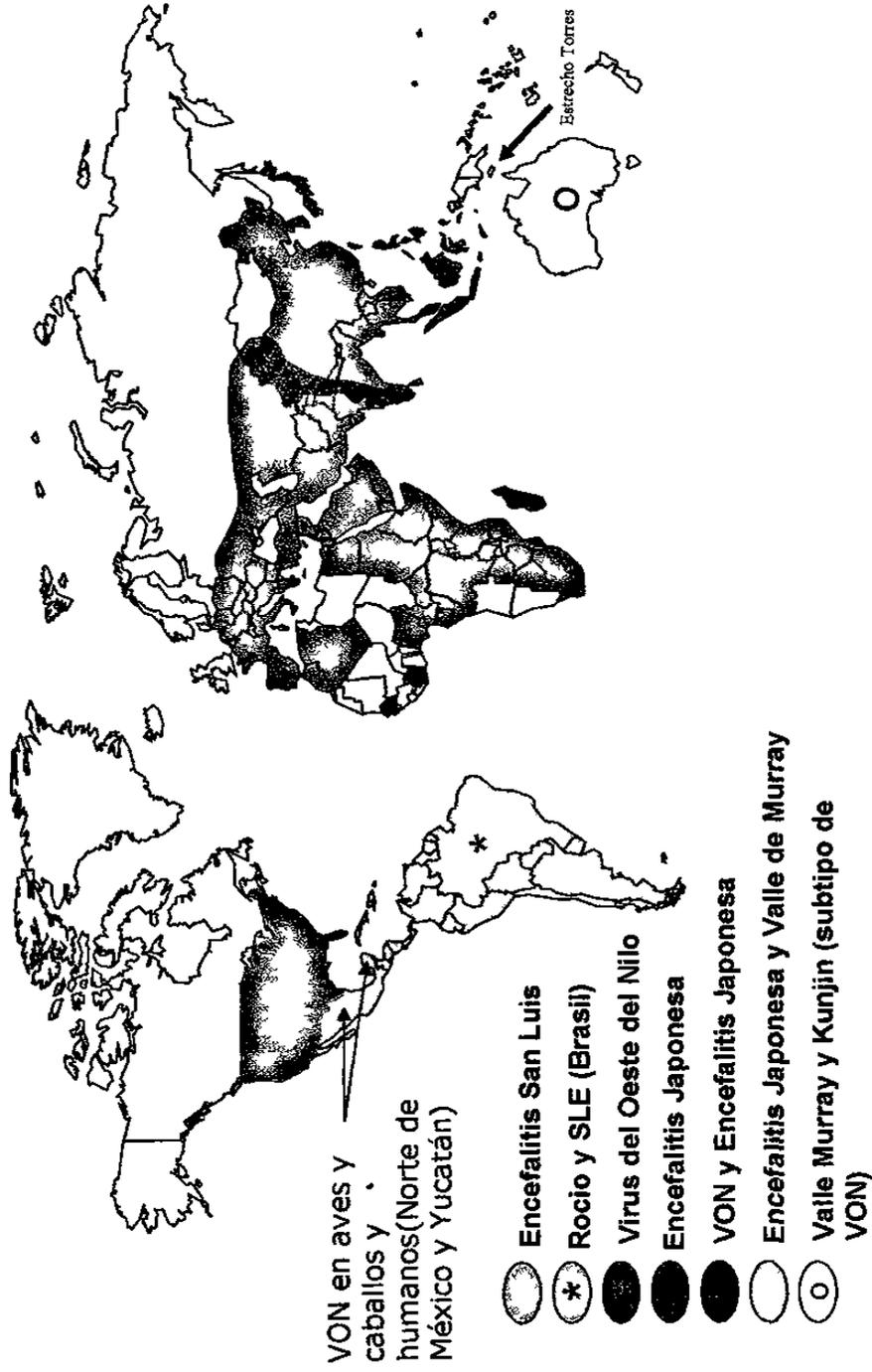
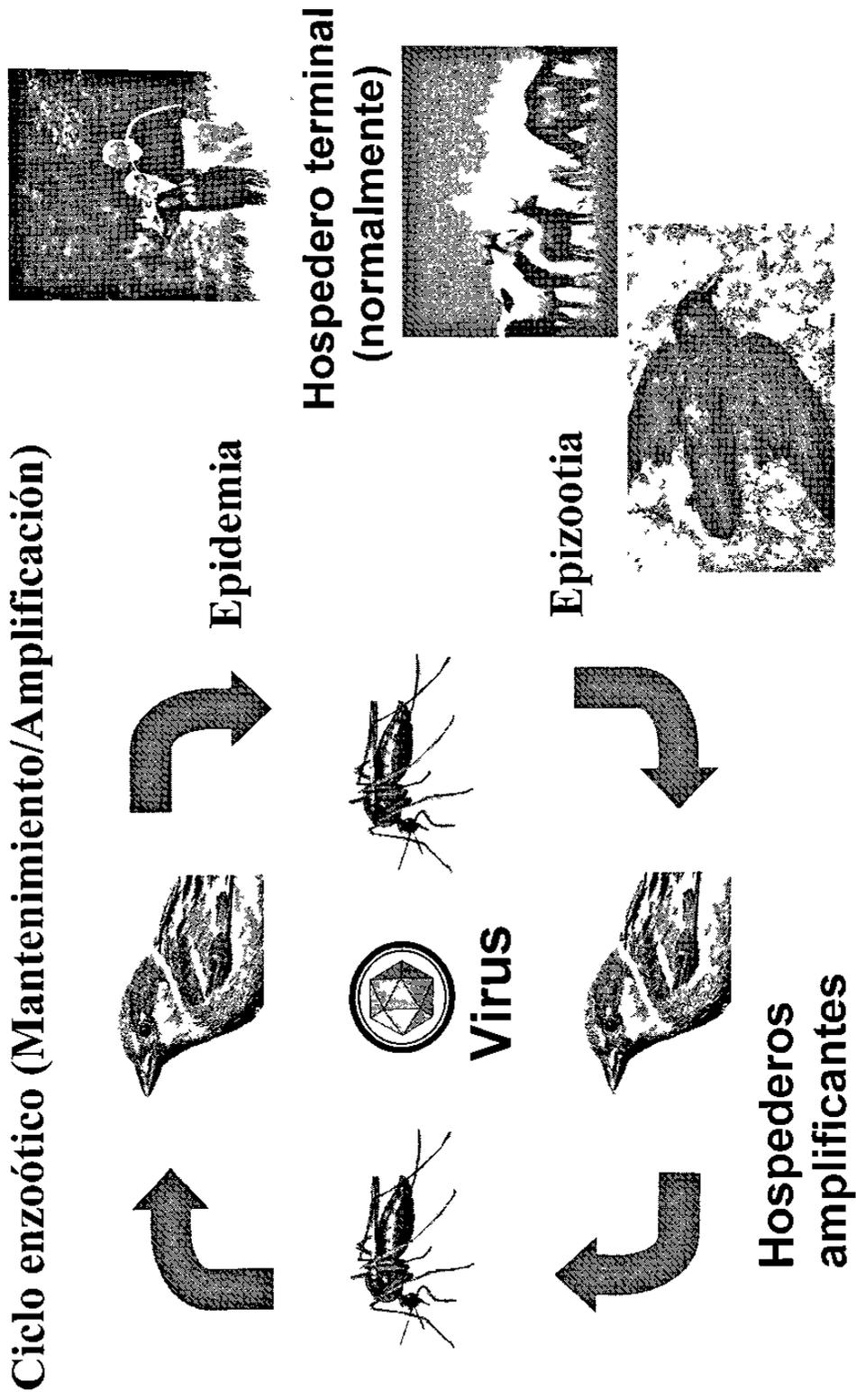


Figura 4. Ciclo de transmisión del virus del Oeste del Nilo en América



Capítulo 2

Patrones de alimentación de Hospederos de *Cx. quinquefasciatus* en Guadalupe y Escobedo, N. L, México

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.

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

forrajeo 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 forrajeo de uno, indica que no existe selectividad ni a favor ni en contra de un particular hospedero animal; tasa de forrajeo 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*.

HIPOTESIS

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 periodos 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 fácilmente 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).

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

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 inmunolectroforesis 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 policlonales, 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 enzimáticamente, 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).

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 zoofílicas, mientras que las que prefieren a humanos se les llaman antropofílicas. 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 antropofílica 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 difícil 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 el 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 coleccionar 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* coleccionados 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.

Tempelis, (1975) menciona en su artículo 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 significativo 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, aquí el punto para este trabajo fue establecer el índice antropofílico 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 artículo, 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 zoofílicas. Pocas alimentaciones sobre humanos fueron reportadas por *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 humano-vacuno 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

específico y la ELISA directa utiliza el anticuerpo enzima-conjugado solo para capturar el Ig G del hospedero específico 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 eluidas 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 específica 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, Louisiana, 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 especímenes 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 específico dividido por el porcentaje de la especie de hospedero específico del número 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 peridomiciliarios 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; el índice de sangre humana oscila entre 0.11 a 0.21 y observaron que esta especie se alimenta más 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 intradomiciliariamente 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) determinó el comportamiento alimenticio de *An. pseudopunctipennis*, así como la tasa de forrajeo 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 indicó 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 Rifi), 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 peridomiciliares se

hicieron en los patios de las casas. Los especímenes 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 manchaban 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 immunosorbent 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, pH 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 realizó 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 sustrato incubando por 30 minutos y leyendo 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 estimó el índice de sangre humana (HBI) y fue calculado de los especímenes 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 especímenes con sangre humana (HBP) que fueron colectados en intradomicilio 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 el 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 específico dividido por el porcentaje del hospedero específico 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%) especímenes 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 especímenes, 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 ($\chi^2=11.3$, $P<0.01$).

Índice de Sangre Humana (HBI)

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 intradomicilio y peridomicilio. 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 sanguíneas 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%, 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).

DISCUSIONES

El comportamiento alimenticio de *Cx. quinquefasciatus* podría convertirlo en un vector potencial importante del Virus del Oeste del Nilo en México, pero esto se está probando todavía. *Cx. quinquefasciatus* fácilmente se alimenta de humanos en el Noreste de México (Tabla 2 a 6), pero el vector fue preferentemente zoofílico 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 ornitofílico 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 especímenes 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 específicas de disponibilidad de hospederos en los sitios de estudio. En contraste, las tasas de forrajeo, las cuales son las medidas de los patrones de selección de hospedero, claramente definen a *Cx. quinquefasciatus* como una especie zoofílica (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 antropofílica (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 (85.0%), humanos (14.0%) y de aves (0.6%) esta ultima tasa fue baja a pesar de la abundancia de animales domésticos en el área. Irby y Apperson, (1988) reportaron que el 95% de los mosquitos colectados en Carolina del Norte contenían sangre de ave (39% de aves galliformes). Sin embargo en Louisiana, Niebylski y Meek, (1992) encontraron que los perros (69.2%) fue el hospedero 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. quinquefasciatus* 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 Oeste del Nilo.

Mientras los resultados de los dos sitios fueron similares, ellos difirieron en el numero de formas, por ejemplo, el 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; Aqueslin® (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).

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 específicas de disponibilidad de hospederos en los sitios de estudio. En contraste, las tasas de forrajeo, las cuales son las medidas de los patrones de selección de hospedero, claramente definen a *Cx. quinquefasciatus* como una especie zoofílica; 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., Diggs, D., Gargan II, T. P. and D. K. Koeh. 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. Fernandez- 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 Enzyme-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 (Diptera: 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.
- 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.
- 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: Culicidae) 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.

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
	Capturados	208	114	322
	% 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
	Capturados	287	173	460
	% Analizados	44.2	32.3	39.7
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.

Hospedero	Mosquitos capturados							
	Guadalupe				Escobedo			
	Intrad	Perid	Total probado	HBP ¹	Intrad	Perid	Total probado	HBP ¹
Humano	47(36.4) ¹	12(9.4) ¹	59	23.0	19(28.4) ¹	0(0.0) ¹	19	15.5
Pollo	50	56	106		38	41	79	
Humano-ave	12	16	28		0	1	1	
Caballo	0	2	2		0	3	3	
Perro	2	13	15		3	0	3	
Gato	2	3	5		2	0	2	
Cerdo	0	1	1		0	1	1	
Otras mezclas	11	16	27		4	8	12	
Sin identificar	5	8	13		1	2	3	
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.

Hospedero	<u>% alimentaciones sanguíneas¹</u>		Media	Media
	Intradomicilio	Peridomicilio	ponderada ²	No ponderada ³
Humano	36.4	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 animales	15.5	33.9	24.6	24.7
<u>Total</u>	<u>100(129)</u>	<u>100(127)</u>	<u>100(256)</u>	<u>100(256)</u>
Caballo	0.0	1.6	0.8	0.8
Perro	1.6	10.2	5.9	5.9
Gato	1.6	2.4	2.0	2.0
Cerdo	0.0	0.8	0.4	0.4
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.

Hospedero	% alimentaciones sanguíneas ¹		Media	Media
	Intradomicilio	Peridomicilio	Ponderada ²	No ponderada ³
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
<u>Total</u>	<u>100(67)</u>	<u>100(56)</u>	<u>100(123)</u>	<u>100(123)</u>
Caballo	0.0	5.4	2.4	2.7
Perro	4.5	0.0	2.4	2.3
Gato	3.0	0.0	1.6	1.5
Cerdo	0.0	1.8	0.8	0.9
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

⁴Índice 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.

Hospedero	% de población	% de población	% Alimentación	FR ^{1,2}	FR ^{1,3}
	de hospederos ²	de hospederos ³	de Sangre ⁴		
Humano	74.8	85.9	23.0	0.3	0.3
Pollo	12.9	-.	41.4	3.2	-.
Animal ⁵	12.3	14.1	35.6	2.9	2.5
<u>Total</u>	<u>100</u>	<u>100</u>	<u>100</u>		
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	0.3	0.3	0.4	1.3	1.3
Tamaño de muestra	699	609	256		

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

² La 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.

**Tabla 6. Tasa de Forrajeo (FR)¹ estimado para hembras de *Culex quinquefasciatus*.
Las colectas se realizaron en el municipio de Escobedo, N. L., México, durante
Octubre-Noviembre 2003.**

Hospedero	% de población de hospederos ²	% de población de hospederos ³	% Alimentación de Sangre ⁴	FR ^{1,2}	FR ^{1,3}
Humano	36.3	58.3	15.4	0.4	0.3
Pollo	38.0	--	64.2	1.7	--
Animal ⁵	25.7	41.7	20.4	0.8	0.5
<u>Total</u>	<u>100</u>	<u>100</u>	<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	443	276			

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

² La 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)

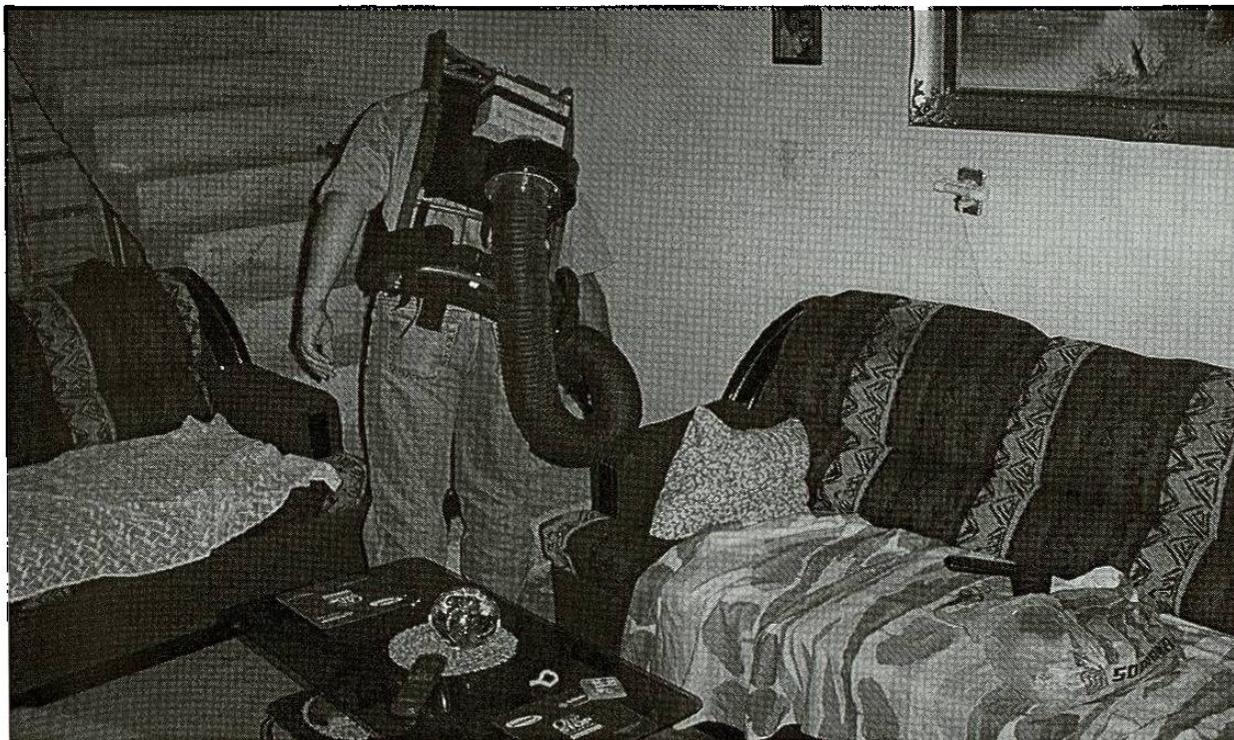


Foto 2. Colecta intradomiciliar (Aspirador motorizado de espalda)

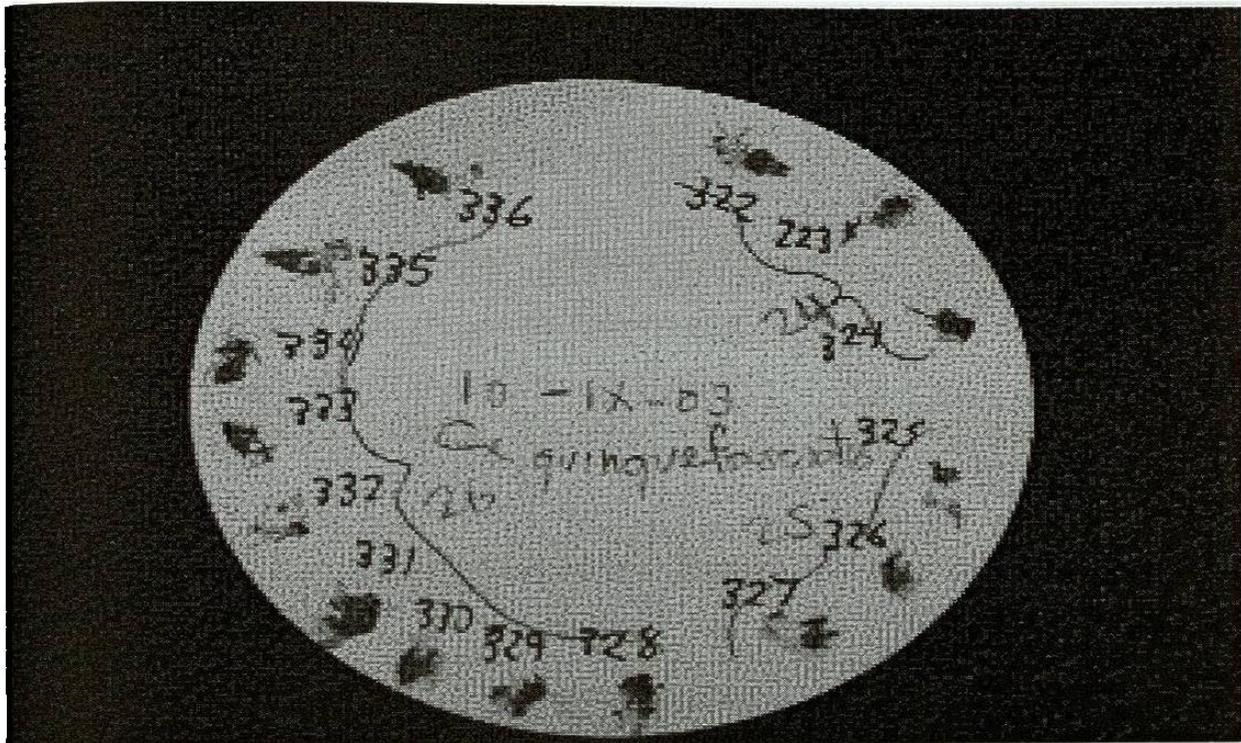


Foto 3. Muestras de sangre en papel filtro Whatman No. 2

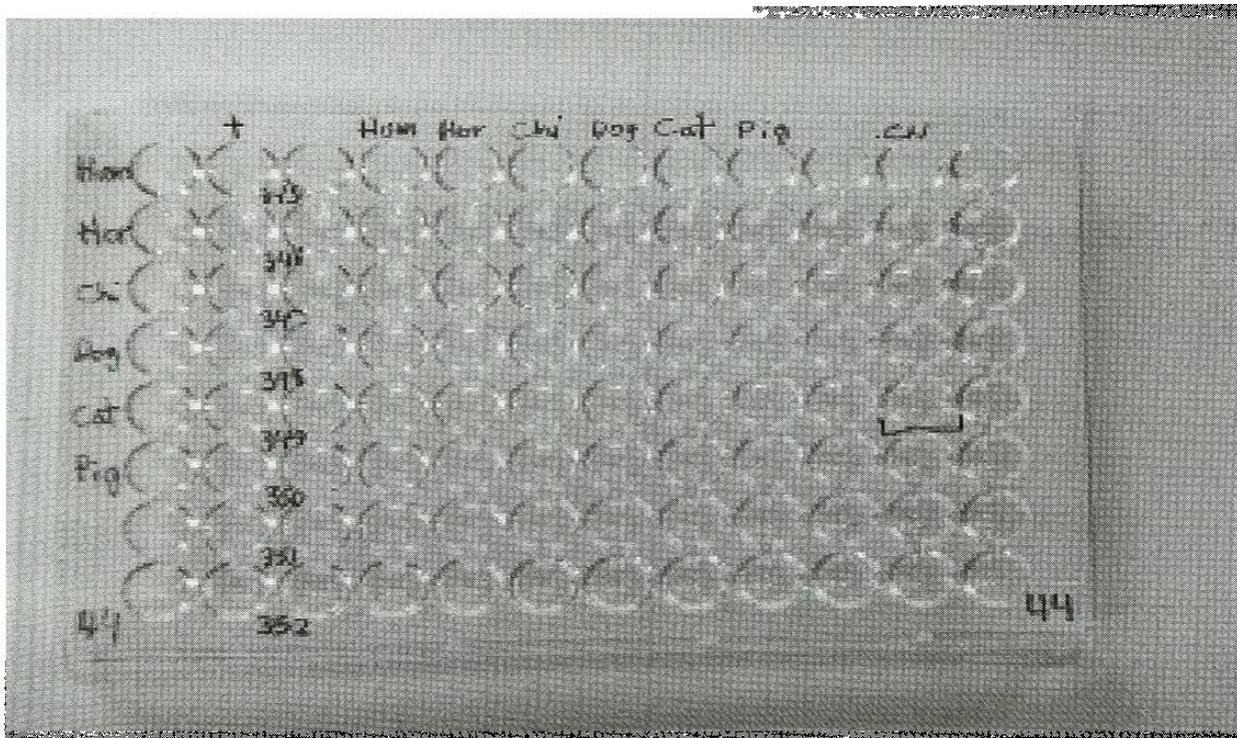


Foto 4. Microplaca etiquetada con número de muestra y controles (+ y -)

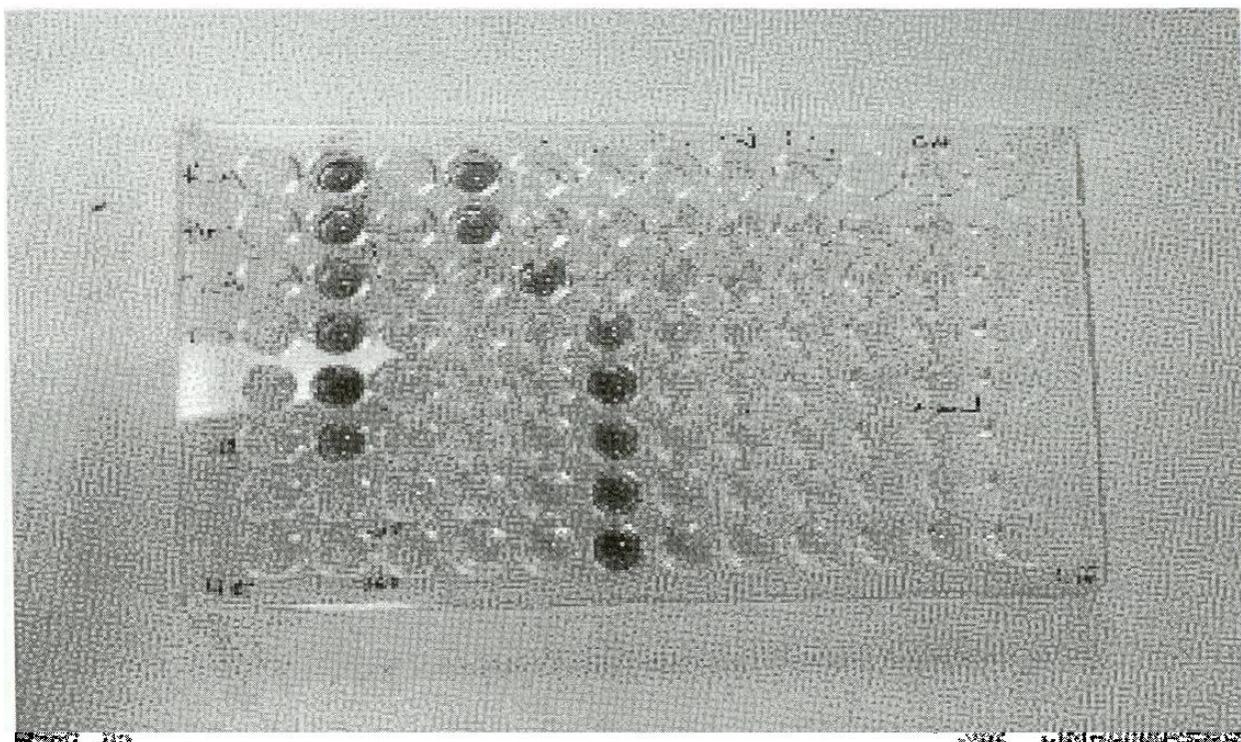


Foto 5. Microplaca con reacciones positivas

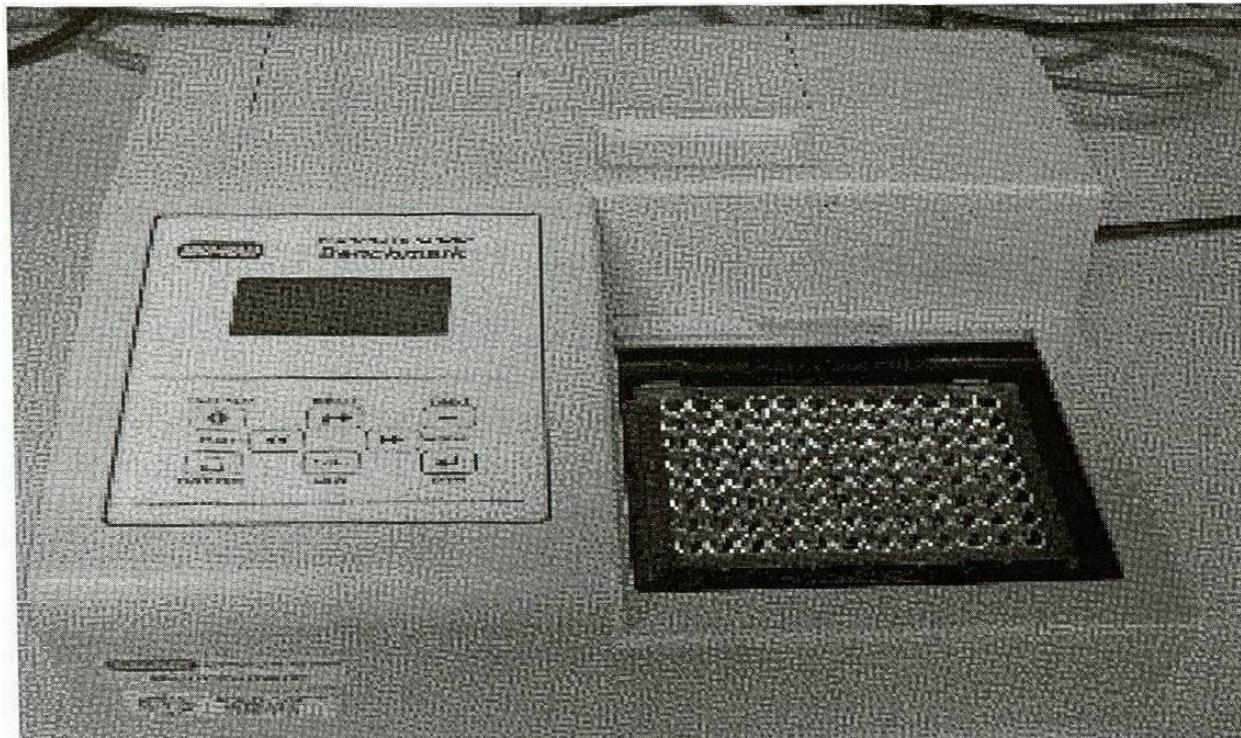


Foto 6. Lector de microplacas Benchmark