

**INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA  
CENTRO REGIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
PÚBLICA  
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MEXICO**

---

---

**“TASA DE INFECCIÓN POR VIRUS CHIKUNGUNYA Y DENGUE EN  
MOSQUITOS *Aedes spp.* EN LA REGIÓN SOCONUSCO, CHIAPAS, MÉXICO”**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN CIENCIAS DE LA  
SALUD CON ÁREA DE CONCENTRACIÓN EN ENFERMEDADES  
TRANSMITIDAS POR VECTOR**

**PRESENTA:**

**QFB. JUAN ALBERTO LOPEZ PEREZ  
GENERACIÓN 2014-2016**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. CARLOS FÉLIX MARINA FERNÁNDEZ**

**ASESORES:**

**DR. JORGE AURELIO TORRES MONZÓN  
DRA. TERESA LÓPEZ ORDÓÑEZ**

**TAPACHULA, CHIAPAS  
ENERO DEL 2017**

*La frase más excitante que se puede oír en ciencia, la que anuncia nuevos descubrimientos, no es "¡Eureka!" (¡Lo encontré!) sino 'Es extraño ...'.*

**Isaac Asimov**

## **AGRADECIMIENTOS**

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por apoyarme con la beca para realizar mis estudios de Maestría en Ciencias de la Salud con énfasis en Enfermedades Transmitidas por Vector.*

### **A mi comité de tesis**

*Dr. Carlos Félix Marina Fernández, por todo el apoyo que me brindó con su enseñanza, consejos, correcciones y su valioso tiempo.*

*Dr. Jorge Aurelio Torres Monzón, por sus consejos y observaciones en el análisis molecular y el tiempo dedicado a mi trabajo.*

### **Al personal técnico y de laboratorio**

*C. José Muñoz, por su apoyo técnico y su enseñanza en los muestreos entomológicos, pero sobre todo por su generosidad al compartir toda su experiencia.*

*MC. Nelva Chirino, por el apoyo durante el trabajo de laboratorio.*

### **A mis amigos y compañeros**

*MC. Liliana López Tirado y MC. Rene Montejo López, por su amistad, compañerismo, y su compañía en las noches de desvelo, más que mis amigos se convirtieron en mis hermanos.*

*MC. Didier Casanova, por su confianza y amistad incondicional, y por ser uno de mis mejores amigos.*

*MC. Viridiana Rodas, MC. Samantha Ruiz y MC. Balam Guillen, por su todos los momentos compartidos en este trayecto.*

*Al Capítulos de profesores, por el tiempo dedicado a las clases y a las prácticas de laboratorio y de campo, pero sobre todo por transmitirme la pasión por la ciencia.*

### **A la coordinación de la Maestría**

*Dra. Teresa López Ordoñez, por todo el apoyo brindado a lo largo de la maestría, por sus valiosos consejos y por aquellos merecidos regaños. Pero sobre todo por la dedicación que nos brindó a sus alumnos.*

## DEDICATORIA

*A mi padres: Juan López Hernández Y María Antonia Pérez Moshan, quienes me dieron la vida, y me guiaron a lo largo de mi existencia, brindándome su apoyo incondicional, su amor, y comprensión.*

*A mi Esposa Guadalupe Cruz Mérida, ya que es mi compañera de vida, por su apoyo y comprensión en todo momento y por el amor que me demuestra cada día.*

*A mis Hijos: Nikté, Santiago y Geraldine, por ser mi fuerza, mí motivo, mí esperanza y mí consuelo siempre. Pero sobre todo por ser mi alegría y por ese amor tan puro que me brindan.*

*A mis Hermanos: Alma Rosa López Pérez y Antonio Alejandro López Pérez, por demostrarme su cariño y apoyo.*

*A mi hermano Marianito Baldemar, que me ve desde el cielo, y a quien siempre llevo en el corazón.*

## **Resumen**

El dengue, zika y chikungunya son problemas de salud pública mundial. Estas enfermedades son transmitidas por mosquitos del género *Aedes*. En México, la presencia de *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus* han propiciado el ingreso, establecimiento y la propagación de estas enfermedades.

En el presente estudio se realizaron muestreos para coleccionar adultos de mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en domicilios con casos sospechosos de chikungunya o/y dengue en municipios de la región Soconusco del estado de Chiapas. También se muestrearon cuatro viviendas cercanas habitadas por personas sanas sin síntomas aparentes de las enfermedades como casas controles. Además se realizaron muestreos en panteones en los varios municipios de la región. Los mosquitos coleccionados fueron identificados por especie y sexo, y después analizados a través de RT-PCR dúplex para la detección de virus de dengue y/o chikungunya. Un total de 1311 mosquitos del género *Aedes* fueron coleccionados durante todo el estudio en casas y cementerios. En viviendas se coleccionaron un total de 824 mosquitos de la especie *Ae. aegypti* y 96 *Ae. albopictus*. Mientras que en cementerios se coleccionaron 174 *Ae. aegypti* y 217 *Ae. albopictus*. Se formaron 49 pools de *Ae. aegypti* (28 de hembras y 21 de machos) y 17 pools de *Ae. albopictus* (10 de hembras y 7 de machos). En los análisis de RT-PCR no se logró la amplificación del genoma de los virus chikungunya y dengue y no fue posible determinar la tasa de infección en ambas especies de mosquitos.

Las cantidades de mosquitos coleccionados de ambas especies son similares a los coleccionados en otros estudios en los cuales si lograron detectar virus CHIKV y DENV y determinar la tasa de infección en poblaciones de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*. Esto no significa la ausencia de la transmisión de estos virus, pero es probable que las prevalencias para ambas enfermedades fueran bajas durante el muestreo y difíciles de detectar con las poblaciones de vectores coleccionadas.

**Palabras clave:** *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, mosquitos infectados.



<b>INDICE</b>	
<b>I.- INTRODUCCION</b>	<b>4</b>
<b>III.- OBJETIVOS</b>	<b>8</b>
<b>IV.- METODOLOGIA</b>	<b>9</b>
4.1.- TIPO DE ESTUDIO	9
4.2.- MUESTREO DE MOSQUITOS	9
4.3.- EXTRACCION DE RNA	10
4.4.- DETECCION VIRAL	11
<b>V. RESULTADOS</b>	<b>12</b>
5.1.- INFESTACIÓN DE <i>Ae. aegypti</i> y <i>Ae. albopictus</i> EN CASAS CON CASOS SOSPECHOSOS Y CASAS CONTROL	12
5.2.- MUESTREO ENTOMOLÓGICO DE VIVIENDAS	13
5.3.- MUESTREO ENTOMOLÓGICO EN PANTEONES	16
5.4 .- EXTRACCION DE RNA	17
5.5.- DETECCIÓN VIRAL MEDIANTE RT-PCR DÚPLEX	18
<b>VI.- DISCUSIONES</b>	<b>22</b>
<b>VII.- CONCLUSUION</b>	<b>24</b>
<b>VII.- REFERENCIAS</b>	<b>25</b>



## I.- Introducción

Las enfermedades transmitidas por vectores (ETV's) son un problema de salud pública a nivel mundial, y representan el 17% de la carga de enfermedades infecciosas (WHO, 2014). En los últimos años se ha observado el surgimiento y resurgimiento de epidemias causadas por arbovirus, principalmente por virus como el dengue, la encefalitis japonesa, la fiebre amarilla, la encefalitis equina venezolana, virus del oeste del Nilo, Chikungunya y Zika, por mencionar algunos (Gubler, 2002). El aumento de estas epidemias está relacionado con factores sociales, económicos, biológicos y ambientales, que influyen en la dispersión de los vectores, e incrementan la distribución de las arbovirosis en países que hasta hace poco no se reportaban casos, al igual que contribuyen a la reaparición de brotes en lugares en las que se creía había control sobre ciertos virus (Weaver & Reisen, 2010).

El virus dengue pertenece al género *Flavivirus*, familia *Flaviviridae*, el cual posee cuatro serotipos, DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN- 4. (Gubler, 1998). DENV es de origen zoonótico, y se transmite principalmente entre los seres humanos por la picadura de mosquitos infectados de las especies *Aedes aegypti* y *Ae. albopictus* (Gubler, 2011; Sim & Hibberd, 2016). La mayoría de las infecciones por este virus son asintomáticas. Sin embargo, el virus puede causar fiebre benigna del dengue (FD), y los síntomas pueden aparecer en un lapso de 3-14 días después de la infección. Los principales síntomas son: fiebre elevada, dolor de cabeza muy intenso y dolor retro ocular. Existen también formas más graves de la enfermedad, como fiebre hemorrágica del dengue (FHD), la cual es una complicación potencialmente mortal porque cursa con extravasación de plasma, acumulación de líquidos, dificultad respiratoria, hemorragias graves o falla orgánica, o síndrome de choque del dengue (DSS)( Dick *et al.*, 2012). En las últimas décadas la incidencia de dengue osciló entre 2.4 millones de casos en todo el mundo y se estima que cada año unas 500,000 personas padecen dengue grave (principalmente niños) de los cuales aproximadamente el 2.5% fallece (WHO, 2016).

El número de casos notificados pasó de 2,2 millones en 2010 a 3,2 millones en 2015, En este mismo año, se notificaron 2,35 millones de casos tan solo en la Región de las Américas, de los cuales más de 10,200 casos fueron diagnosticados como dengue grave y provocaron 1,181



defunciones (WHO, 2016), en México en lo que va del 2016 se han reportado 16,510 casos confirmados, de los cuales 796 casos fueron en Chiapas (SINAVE 2016).

El virus chikungunya pertenece al género *Alphavirus*, de la familia *Togaviridae*, del que se han reconocido 3 genotipos: el asiático, el del oeste africano y el del este-central-sur africano (Tsetsarkin *et al.*, 2011). Este virus evolucionó como una infección urbana en las zonas tropicales y subtropicales del viejo mundo, y es transmitido principalmente por los mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, ambos estrechamente relacionados con el ambiente humano domiciliar y peridomiciliar (Jupp & McIntosh, 1998). Este virus es el agente etiológico de la fiebre chikungunya (CHIK), esta enfermedad tiene un período de incubación de 3-7 días en los que no presentan síntomas. Posterior a ese periodo, los pacientes sintomáticos generalmente reportan un inicio abrupto de la enfermedad que se caracteriza por fiebre alta, dolor de espalda, dolor de cabeza, fatiga y poliartralgia, estos signos suelen ser incapacitantes y de efecto crónico (Powers & Logue, 2007). Las complicaciones graves no son frecuentes aunque puede ser causa de muerte en personas mayores o que tienen enfermedades crónico-degenerativas (OMS 2016).

La epidemia causada por CHIKV se extendió en África, Medio Oriente, Europa, India y el sudeste de Asia a partir del 2005 (Morrison, 2014). Posteriormente, la transmisión autóctona del CHIKV se detectó en la isla St. Martin, en el caribe Americano en diciembre de 2013 (Fischer, *et al.*, 2014; Cassadou *et al.*, 2014). Desde entonces, la CHIKV ha sido reportada en varios países del Caribe, así como en el continente Americano. El mosquito *Ae. aegypti* ha sido el único vector implicado en los brotes de América (Vega *et al.*, 2015; Díaz-González *et al.*, 2015). El número de casos notificados en el continente Americano, desde el reporte del primer caso autóctono, hasta la semana epidemiológica (SE) 48 del 2016 asciende a 185,238 casos confirmados (OPS/OMS., 2016). En México fue detectado el virus por primera vez en el estado de Jalisco como caso importado (Rivera *et al.*, 2014). En Noviembre del 2014, se reportó el primer caso autóctono en el estado de Chiapas (Fernández-Salas *et al.*, 2015). Ya en el 2015 la enfermedad se había dispersado a 28 estados de la república Mexicana, y hasta la semana epidemiológica 47 del 2016 se reportan 12,428 casos confirmados, de los cuales 825 de ellos corresponden a los confirmados en el estado de Chiapas (SINAVE, 2016a).



Las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* se consideran invasoras, ya que han colonizado exitosamente muchos sitios fuera de sus ámbitos nativo. Esta dispersión hace que estas especies sean de las más importantes a nivel mundial, principalmente en la transmisión de las enfermedades causadas por DENV y CHIKV. (Diallo *et al.*, 2014; Ioos *et al.*, 2014; Ledermann *et al.*, 2014). En lo que respecta al continente Americano, se sabe que grandes regiones están altamente infestadas con mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (Vega *et al.*, 2014). En México *Ae. aegypti* se encuentra presente desde que re-infestó el país en 1965 por la frontera norte y en 1977 en la frontera sur. En tanto que *Ae. albopictus* fue reportado por primera vez en 1993 en la frontera norte y en el 2002 en la frontera sur (Ibáñez-Bernal y Gómez-Dantés, 1995; Martínez & Estrada, 2003).

Las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* han sido los principales vectores del DENV en países latinoamericanos en donde el dengue es endémico, como México. Este hecho aumentó la vulnerabilidad de la población a las infecciones emergentes por CHIKV, ya que este virus tiene los mismos determinantes epidemiológicos de transmisión que DENV (Fernández-Salas *et al.*, 2015). La capacidad vectorial de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* para transmitir CHIKV se demostró experimentalmente en poblaciones de ambas especies provenientes de diversas regiones del continente americano (Vega *et al.*, 2014, 2015). Sin embargo, hasta la fecha solo se ha comprobado la participación de *Ae. aegypti* como transmisor de CHIKV en el sur de México (Díaz-González *et al.*, 2015; Dzul-Manzanilla *et al.* 2015).

La tasa de infección es una estimación de la prevalencia de la infección por arbovirus en una población de mosquitos. Se supone que cuando aumenta la tasa de infección, también aumenta el riesgo de transmisión de arbovirus a humanos y animales (Bustamante *et al.*, 2010). Por lo que la estimación de la tasa de infección en vectores puede ser una herramienta para la vigilancia de estas enfermedades, y también ayudan a medir el éxito de los programas de control (Katholi *et al.*, 2006). Se han realizado diversos estudios a nivel mundial, con el fin de estimar la tasa de infección de CHIKV y DENV en poblaciones de aedinos. En estos estudios se han encontrado distintas tasas de infección que varían desde 1.5 hasta 52 mosquitos infectados por cada 1000 mosquitos, en investigaciones para la detección de infección por dengue. Por otra parte en la detección de CHIKV se reportan tasas de infección que van desde 32.2 a 530 mosquitos infectados por cada mil mosquitos (tabla 1).



<b>Tabla 1.- Resumen de tasas de infección reportadas a nivel mundial</b>				
<b>País donde se realizó el estudio</b>	<b>Virus estudiado</b>	<b>Vector estudiado</b>	<b>Tasa de infección</b>	<b>Autor</b>
Venezuela	DENV	<i>Ae. aegypti</i>	DENV-1 52/1000 DENV-2 7/1000 DENV-3 32/1000 DENV-4 13/1000	Urdaneta <i>et al.</i> (2005)
India	DENV	<i>Ae. aegypti</i>	1.55/1000	Das <i>et al.</i> , (2013)
		<i>Ae. albopictus</i>	4.74/1000	
		<i>Ae. aegypti</i>	10.87/1000 en hembras 11.03/1000 en machos	Dutta <i>et al.</i> (2015)
México	DENV	<i>Ae. aegypti</i>	33.3/1000	Pérez-Castro <i>et al.</i> (2016)
Tailandia	CHIKV	<i>Ae. albopictus</i>	530/1000	Thavara <i>et al.</i> (2009)
		<i>Ae. aegypti</i>	100/1000	
Gabón	CHIKV	<i>Ae. albopictus</i>	25/1000	Pagès <i>et al.</i> (2009)
México	CHIKV	<i>Ae. aegypti</i>	32.3/1000	Díaz-González <i>et al.</i> (2015).
			23.32/1000	Dzul <i>et al.</i> (2015)

En este estudio se analizaron mediante RT-PCR dúplex adultos de mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*, los cuales se colectaron en domicilios en los cuales habían personas con síntomas que indicaban probables casos de DENV y CHIKV y en domicilios control (donde no había casos probables), así como en cementerios de municipios de la región Soconusco del estado de Chiapas, con el propósito de detectar la infección por CHIKV y DENV en estas especies y calcular su respectiva tasa de infección.



### III.- Objetivos

#### *Objetivo general*

Determinar las tasas de infección de virus chikungunya y virus dengue en mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en la región Soconusco, Chiapas.

#### *Objetivos específicos*

- Comparar las tasa de infección de CHIKV y DENV en mosquitos adultos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* de localidades de región Soconusco.
- Determinar la probable participación de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en la transmisión de CHIKV y DENV en el soconusco de Chiapas.



## IV.- Metodología

### 4.1.- Tipo de estudio.

El presente estudio fue de tipo transversal en el que se realizaron muestreos para coleccionar mosquitos adultos de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en viviendas que se habían reportado personas con síntomas relacionados con la enfermedad de chikungunya pero que pueden ser confundidos con los de dengue. Asimismo, se realizaron muestreos entomológicos en panteones de varios municipios de la Región del Soconusco, Chiapas.

### 4.2.- Muestreo de mosquitos

Los muestreos se realizaron de noviembre del 2015 a febrero del 2016, en localidades de los municipios de Tapachula, Huixtla, Metapa, Cacahuatán, Huehuetán y Tuxtla chico de la región del Soconusco, en el estado de Chiapas. En dichas localidades se pidió información en los centros de salud sobre casos probables de chikungunya y dengue. En base a dicha información se realizó la búsqueda y localización de casas donde había personas con los síntomas más frecuentes de estas enfermedades. En las casas con reporte de personas con síntomas de las enfermedades se les solicitó la anuencia a los jefes de familia para realizar un muestreo entomológico a través de un consentimiento informado. Una vez que se autorizó el acceso a los domicilios con probables casos, se procedió al muestreo. Por cada casa con probable caso se muestrearon otras cuatro casas vecinas en un radio de 100 m, en las cuales no habían personas con sintomatología asociada a chikungunya y dengue. En estas viviendas también se les solicitó su participación a través del consentimiento informado. También se realizaron muestreos extradomiciliares de mosquitos los cuales se llevaron a cabo en panteones. En Tapachula, se muestrearon los panteones Jardín, Panteón Municipal, Río Florido y Raymundo Enríquez. Así como los panteones municipales de Huehuetán, Cacahuatán, Huixtla y Tuxtla Chico. El muestreo entomológico en las casas se llevó a cabo a través de la búsqueda de mosquitos con la ayuda de una lámpara manual en el interior y en exterior de los domicilios. Todos los lugares que servían como refugio de mosquitos fueron inspeccionados para la colecta de dichos insectos en sus sitios de reposo. Una vez que se localizaron los mosquitos se realizó la captura con una red entomológica y tubo colector. Los muestreos en panteones, se realizaron por transectos y se hizo la búsqueda de mosquitos en



refugios naturales y vegetación adyacente, así como en sitios con criaderos naturales y artificiales. En estos sitios se realizaron redadas con la red entomológica para realizar las capturas y también se usó el tubo colector. Los mosquitos capturados en casas y panteones, se confinaron en vasos de plástico transparente con capacidad de 207 ml, cubiertos en la parte superior por una tela tul y sostenido por el borde con una liga látex #8. Los mosquitos capturados fueron transportados al insectario del Centro Regional de Investigación en Salud Pública (CRISP). Todos los mosquitos colectados fueron sacrificados de inmediato en el interior del insectario. El cuarto de insectario asignado a este estudio estaba aislado por cinco puertas de seguridad con el exterior. Por lo que no existió riesgo de que los mosquitos colectados pudieran escapar al exterior. La identificación de los mosquitos adultos de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* se realizaron mediante claves taxonómicas pictóricas (Rueda, 2004). Después de su identificación los mosquitos fueron almacenados individualmente en viales ependorff de 1.5 ml a  $-70^{\circ}$  C.

#### **4.3.- Extracción de RNA**

Los mosquitos se maceraron individualmente y después se realizó la extracción del material genético con el reactivo Trizol, siguiendo las instrucciones del proveedor. Cada mosquitos fue contenido en un vial tipo ependorff de 1.5 ml, al cual se le agregó 200  $\mu$ l de trizol se agitó por 5 minutos a temperatura ambiente y se le agregó 40  $\mu$ l de cloroformo, mezclando de 5 – 10 segundos en el vortex, se centrifugó por 10 min a 14000 rpm a  $4^{\circ}$ C. El sobrenadante se transfirió a tubos limpios y rotulados, se le agregó 100 $\mu$ l de isopropanol, consecutivamente se incubo por 15 sobrenadante, y al precipitado se le agrego 100  $\mu$ l de etanol al 70% se homogenizo suavemente, nuevamente se centrifugó a 14000 rpm por 10 min, después se decantó el sobrenadante y se dejó secar la pastillas por cinco min o hasta que se evaporó el etanol. Finalmente se agregó 20  $\mu$ l de agua libre RNAsas, el RNA se almacenó  $-20^{\circ}$ C hasta su uso para la RT-PCR.



#### 4.4.- Detección viral

Una vez extrajo el RNA de cada mosquito, se hicieron pools de los extractos de RNA, los cuales se agruparon por lugar de captura, especie y sexo, para formar 69 pools conformados por grupos que variaron de 12 especímenes como mínimo hasta 23 como máximo. Antes de la detección viral los pools de RNA serán sometidos a pruebas de control de calidad, para este estudio se medirá la concentración de RNA de cada pool por espectrofotometría en NanoDob® y se correrá una RT-PCR con primer de un gen constitutivo.

La detección de CHIKV y DENV se realizó por la técnica de reacción en cadena de polimerasa dúplex con retrotranscriptasa (D-RT-PCR) usando el kit Access quick 1-step RT-PCR (Promega, Madison, WI). Los primers que se utilizaron para la detección de CHIKV están dirigidos para amplificar fragmentos del gen de la proteína E1: CHIK1 5'-ACGCAGTTGAGCGAAGCAC-3' y CHIK2 5'-CTGAAGACATTGGCCCCAC-3' y para DENV se amplificara el fragmento del gen C-prM : DEN1 5'-TCAATATGCTGAAACGCG(ACT)GAGAAACCG-3' y DEN2 5'-TTGCACCA(AG)CA(AG)TC(AT)ATGTC(AT)TCAGGTTC -3' (Dash *et al.*, 2004). En la D-RT-PCR se usó un volumen final de 25 µl que contendrá 2,5 U de Tfl ADN polimerasa, 1,5 mmol / L MgSO<sub>4</sub>, 2,5 U de transcriptasa inversa del virus del Myeloblastoma aviar (AMV-RT), y 20 pmol de los primers sentido y antisentido mencionados anteriormente. Las condiciones de la reacción de RT-PCR fueron: 45 ° C durante 45 min para la transcripción reversa, seguido de la desnaturalización inicial a 95 ° C durante dos min. Posteriormente 35 ciclos de desnaturalización a 94 ° C durante 30 segundos, hibridación de 55 ° C durante un min, la extensión a 72 ° C durante un min, y una extensión final a 72 ° C durante diez min (Dash *et al.*, 2008). Después de la amplificación, los productos de PCR se sometieron a electroforesis y se documentaron los geles de agarosa teñido con bromuro de etidio al dos por ciento en un transiluminador de luz UV.



## V.- Resultados.

### 5.1 Infestación de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en casas con casos sospechosos y casas control

En el muestreo a viviendas se inspeccionaron un total de 130 casas, de las cuales 26 fueron de casos probables de CHIKF y/o DENF, y 104 casas funcionaron como control en los 3 municipios muestreados. En el municipio de Tapachula se muestrearon un total de 21 viviendas con casos sospechosos y 84 viviendas control. Los muestreos en este municipio se realizaron en dos zonas. La primera fue la zona urbana que comprende la ciudad de Tapachula, en la cual se muestrearon nueve viviendas con casos probables, y 36 viviendas control. Las nueve casas con casos probables fueron positivas a *Ae. aegypti* y solo una lo fue a *Ae. albopictus*. Asimismo, las 36 viviendas control fueron positivas a *Ae. aegypti* y ninguna a *Ae. albopictus*. Los muestreos en la zona rural del municipio de Tapachula se realizaron en el Ejido Hidalgo y Rio Florido. En el Ejido Hidalgo se muestrearon nueve domicilios con casos sospechosos y 36 casas control. Ocho de los nueve domicilios con sospechosos fueron positivos para *Ae. aegypti*, y dos casas positivas a *Ae. albopictus*. En tanto que en 34 de las 36 casas control se colectó la especie *Ae. aegypti*, mientras que 25 viviendas estuvieron infestadas de mosquitos *Ae. albopictus*. En Rio Florido se muestrearon solo tres viviendas con casos probables y 12 casas control. De las tres casas de personas con síntomas, dos fueron positivos a la especie *Ae. aegypti* y ninguna vivienda fue positiva *Ae. albopictus*. En las viviendas control 11 de 12 fueron positivas a *Ae. aegypti* y una a *Ae. albopictus*. En los municipios de Huixtla y Metapa, los muestreos fueron únicamente en las cabeceras municipales, siendo estas zonas semi-urbanas. En Huixtla se inspeccionaron tres viviendas con casos probables en las que todas fueron positivas solo para *Ae. aegypti*. También se muestrearon 12 casas control de las cuales 10 fueron positivas a *Ae. aegypti* y no se encontró *Ae. albopictus*. Finalmente en Metapa se muestrearon dos casas con probables casos, las cuales estaban infestadas solo con *Ae. aegypti*. Asimismo, siete de las ocho casas control se encontraron con *Ae. aegypti* y en ninguna se detectó con *Ae. albopictus* (Tabla 3).



**Tabla 2.- Proporción de casas con infestación de mosquitos adultos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en domicilios con casos sospechosos de DENF y CHIKF en localidades de la Región soconusco, Chiapas.**

MUNICIPIOS	Viviendas con probables casos			Viviendas control		
	# de casas inspeccionadas	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	# de casas inspeccionadas	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>
		n viviendas positivas (%)	n viviendas positivas (%)		n viviendas positivas (%)	n viviendas positivas (%)
<b>TAPACHULA</b>						
<b>Zona urbana</b>						
-Cd. Tapachula	9	9 (100%)	1 (11.11%)	36	36 (100%)	0
<b>Zona rural</b>						
-Ejido hidalgo	9	8(88.8%)	2 (22.2%)	36	34 (94.4%)	25(69.4%)
-Rio florido	3	2(66.6%)	0	12	11(91.6%)	1(8.3%)
HUIXTLA	3	3(100%)	0	12	10(83.3%)	0
METAPA	2	2(100%)	0	8	7(87.5%)	0

### 5.2.- Muestreo entomológico de viviendas

Un total de 1311 mosquitos *Aedes spp.* fueron colectados durante el periodo de noviembre del 2015 a febrero del 2016 en viviendas y panteones en localidades de tres municipios de la región del Soconusco, Chiapas. En los muestreos en casas se colectaron 920 mosquitos *Aedes spp.* de los cuales el 56.5 % corresponde a la especie *Ae. aegypti* y el 43.5 % *Ae. albopictus*. En panteones fueron capturados 391 especímenes, de estos 44.5 % pertenecieron a la especie *Ae. aegypti* y el 55.5 % a *Ae. albopictus* (Tabla 3).

**Tabla 3.- Número de mosquitos adultos colectados en viviendas por localidad en municipios de la región del Soconusco, Chiapas.**

MUNICIPIO	<i>Ae. aegypti</i>		<i>Ae. albopictus</i>	
	Hembras	Machos	Hembras	Machos
<b>TAPACHULA</b>				
<b>ZONA URBANA</b>				
CD. TAPACHULA	263	222	1	0
<b>ZONA RURAL</b>				
EJIDO HIDALGO	126	96	61	33
RIO FLORIDO	16	12	1	0
<b>HUIXTLA</b>	31	16	0	0
<b>METAPA</b>	30	12	0	0
<b>TOTALES</b>	<b>466</b>	<b>358</b>	<b>63</b>	<b>33</b>



En el municipio de Tapachula, se colectaron un total de 831 mosquitos *Aedes spp.* de los cuales el 58.48% fueron colectados en la zona urbana y 41.52% en la zona rural. Las localidades de la zona rural fueron el Ejido Hidalgo con el 38% de los mosquitos colectados en este municipio y Rio Florido con el 3.49%. En la zona urbana fueron colectados 486 especímenes; de estos 485 mosquitos eran de la especie *Ae. aegypti* y solo un espécimen de *Ae. albopictus*. En domicilios con casos probables de DENF y/o CHIKF en la zona urbana se colectaron 103 especímenes de *Ae. aegypti*, de los cuales 56 fueron hembras y 46 machos, con un promedio de colecta de 6.22 hembras y 5.11 machos por vivienda. La única hembra de la especie *Ae. albopictus* se colectó en un domicilio con probable caso. En las viviendas control de la zona urbana se capturaron un total de 383 mosquitos. Todos los especímenes eran de la especie *Ae. aegypti*, de los cuales, 207 fueron hembras y 176 machos. El promedio de hembras capturadas en casas control fue de 5.75 y de machos fue 4.89 por vivienda, No se colectaron ejemplares de mosquitos *Ae. albopictus*.

En el Ejido Hidalgo en la zona rural del municipio de Tapachula se colectaron un total de 316 mosquitos; de estos, 222 fueron *Ae. aegypti* y 94 *Ae. albopictus*. En los domicilios con casos en esta localidad fueron colectados 46 *Ae. aegypti*, 13 hembras y 29 machos con promedios de 1.44 hembras y 3.22 machos por vivienda. Asimismo, se colectaron cuatro *Ae. albopictus*, dos machos y dos hembras, con un promedio de captura en común de 0.22 mosquitos por vivienda. En las casas control del Ejido Hidalgo se colectaron un total de 266 mosquitos *Ae. aegypti*, de los cuales 113 eran hembras y 63 machos, con un promedios de 3.14 hembras y 1.75 machos capturados por vivienda. En esta misma localidad se colectaron un total de 90 *Ae. albopictus* de los cuales 59 fueron hembras, con un promedio de 1.64 mosquitos por vivienda y 31 machos con un promedio de 0.86 mosquitos. En Rio Florido se colectaron un total de 29 mosquitos; de estos, 28 pertenecieron a la especie *Ae. aegypti* y uno a *Ae. albopictus*. En esta localidad, los mosquitos capturados en viviendas con probables casos fueron en total seis mosquitos *Ae. aegypti*, tres hembras y tres machos. Mientras que en las casas control se colectó un total de 23 mosquitos, de los cuales 13 mosquitos fueron hembras de *Ae. aegypti* y nueve machos, con promedios de 1.08 y 0.75 por vivienda respectivamente. En las casas control de esta localidad se colectó solo una hembra de la especie *Ae. albopictus*. En la zona urbana de Huixtla, la única especie colectada fue *Ae. aegypti*, con 47 especímenes. En las casas con caso probable se colectaron 9 mosquitos, de los cuales siete hembras y dos machos



se capturaron en estos domicilios, con promedios de 2.33 y 0.67 mosquitos por vivienda respectivamente. Mientras que en las casas control los mosquitos *Ae. aegypti* capturados fueron 24 hembras y 14 machos, y el promedio de captura fue de 2.0 y 1.17 mosquitos respectivamente. Por ultimo en zona urbana de Metapa se colectaron 42 mosquitos de la especie *Ae. aegypti*. En esta localidad no se capturaron ejemplares de la especie *Ae. albopictus*. En viviendas con casos probables se colectaron siete hembras y seis machos de *Ae. aegypti*, con promedios de 3.5 y 3.0 especímenes por vivienda respectivamente. Mientras que en los domicilios control se colectaron 23 hembras de *Ae. aegypti* y seis machos, con promedio de 2.88 hembras y 0.75 machos por vivienda (Tabla 4).

<b>Tabla 4.- Cantidad y promedios de mosquitos adultos de <i>Ae. aegypti</i> y <i>Ae. albopictus</i> registrados en colectas efectuadas en domicilios con casos probables de dengue y chikunguya y casas control, en la Región Soconusco, del estado de Chiapas.</b>									
<b>DOMICILIOS CON CASOS PROBABLES</b>									
MUNICIPIOS	Casas	<i>Ae. aegypti</i>				<i>Ae. albopictus</i>			
		Hembras	Promedio hembras	Machos	Promedio machos	Hembras	Promedio hembras	Machos	Promedio machos
<b>TAPACHULA</b>									
ZONA URBANA									
CD. TAPACHULA	9	56	6.22	46	5.11	1	0.11	0	-
ZONA RURAL									
EJIDO HIDALGO	9	13	1.44	29	3.22	2	0.22	2	0.22
RIO FLORIDO	3	3	1.00	3	1.00	0	-	0	-
<b>HUIXTLA</b>	3	7	2.33	2	0.67	0	-	0	-
<b>METAPA</b>	2	7	3.50	6	3.00	0	-	0	-
<b>DOMICILIOS SIN CASOS PROBABLES</b>									
MUNICIPIOS	Casas	<i>Ae. aegypti</i>				<i>Ae. albopictus</i>			
		Hembras	Promedio hembras	Machos	Promedio machos	Hembras	Promedio hembras	Machos	Promedio machos
<b>TAPACHULA</b>									
ZONA URBANA									
CD. TAPACHULA	36	207	5.75	176	4.89	0	-	0	-
ZONA RURAL									
EJIDO HIDALGO	36	113	3.14	63	1.75	59	1.64	31	0.86
RIO FLORIDO	12	13	1.08	9	0.75	1	0.08	0	-
<b>HUIXTLA</b>	12	24	2.00	14	1.17	0	-	0	-
<b>METAPA</b>	8	23	2.88	6	0.75	0	-	0	-



### 5.3.- Muestreo entomológico en cementerios

El muestreo extradomiciliar se realizó en panteones de varios municipios de la región Soconusco y se colectaron un total de 391 mosquitos, de los cuales 174 eran de la especie *Ae. aegypti* y 217 fueron *Ae. albopictus*. En el municipio de Tapachula los muestreos se realizaron en el panteón Municipal y el panteón Jardín de la zona urbana, y los panteones de los ejidos Rio Florido y Raymundo Enríquez de la zona rural en los cuales se colectaron un total de 388 mosquitos. En el Panteón Jardín se colectaron 121 mosquitos de la especie *Ae. aegypti*, de los cuales 21 eran hembras y 47 machos. Mientras que de la especie *Ae. albopictus* fueron 38 hembras y 15 machos. En el panteón Municipal de Tapachula se colectaron un total de 78 mosquitos de los cuales 30 se identificaron como *Ae. aegypti* (12 hembras y 18 machos) y 48 fueron de la especie *Ae. albopictus* (22 hembras y 26 machos). En el panteón de Rio Florido en la zona rural de Tapachula se colectaron un total de 189 mosquitos, de los cuales 76 mosquitos pertenecieron a la especie *Ae. aegypti* (35 hembras y 41 machos) y 113 fueron de la especie *Ae. albopictus* (85 hembras y 28 machos). En el panteón del ejido Raymundo Enríquez no se logró colectar ningún mosquito. En el panteón Municipal de Huixtla se colectaron únicamente 3 hembras *Ae. albopictus*. En los panteones de Cacahuatán, Huehuetán y Tuxtla chico no se lograron capturar ningún mosquito adulto de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (Tabla 5).

**Tabla 5.- Número de mosquitos adultos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* colectados durante los muestreos en panteones de la región del Soconusco, Chiapas.**

	<i>Aedes aegypti</i>		<i>Aedes albopictus</i>	
	Hembras capturadas	Machos capturados	Hembras capturadas	Machos capturados
Tapachula				
Panteón Jardín	21	47	38	15
Panteón Municipal	12	18	22	26
Panteón Rio florido	35	41	85	28
Panteón Ejido Raymundo Enríquez	0	0	0	0
Huixtla				
Panteón Municipal	0	0	3	0
Cacahuatán				
Panteón Municipal	0	0	0	0
Huehuetán				
Panteón Municipal	0	0	0	0
Tuxtla chico				
Panteón Municipal	0	0	0	0
Totales	<b>68</b>	<b>106</b>	<b>148</b>	<b>69</b>



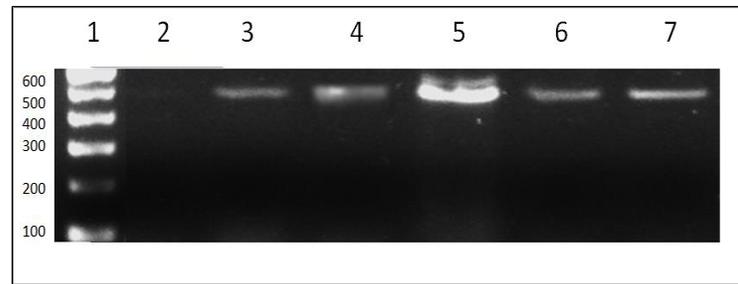
#### 5.4 Extracción de RNA

Los 1311 mosquitos colectados en viviendas y cementerios fueron macerados para la extracción de RNA de forma individual. Para la especie *Ae. aegypti* se realizaron 998 extracciones de RNA y se formaron un total de 49 pools (28 de hembras y 21 de machos). Mientras los extractos de RNA para *Ae. albopictus* se realizaron 313 extractos, de los cuales se conformaron un total de 17 pools (10 de hembras y 7 de machos) (Tabla 5).

Colecta en viviendas				Colecta en panteones			
No de pool	Especie	Sexo	Localidad	No de pool	Especie	Sexo	Panteón
Pool 1-13	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	Tapachula	Pool 1	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	Panteón Jardín
Pool 14-24	<i>Ae. aegypti</i>	macho	Tapachula	Pool 2	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	Panteón Municipal
Pool 25-31	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	E. Hidalgo	Pool 3-4	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	Panteón de Rio florido
Pool 32-36	<i>Ae. aegypti</i>	macho	E. Hidalgo	Pool 5-6	<i>Ae. aegypti</i>	machos	Panteón Jardín
Pool 37-38	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	Metapa	Pool 7	<i>Ae. aegypti</i>	machos	Panteón Municipal
Pool 39	<i>Ae. aegypti</i>	macho	Metapa	Pool 8-9	<i>Ae. aegypti</i>	machos	Panteón Rio florido
Pool 40-41	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	Huixtla	Pool 10-11	<i>Ae. albopictus</i>	hembra	Panteón Jardín
Pool 42	<i>Ae. aegypti</i>	macho	Huixtla	Pool 12	<i>Ae. albopictus</i>	hembra	Panteón Municipal
Pool 43	<i>Ae. aegypti</i>	hembra	Rio florido	Pool 13-16	<i>Ae. albopictus</i>	hembra	Panteón Rio florido
Pool 44	<i>Ae. aegypti</i>	macho	Rio florido	Pool 17	<i>Ae. albopictus</i>	machos	Panteón Jardín
Pool 45-47	<i>Ae. albopictus</i>	hembra	E. Hidalgo	Pool 18-19	<i>Ae. albopictus</i>	machos	Panteón Municipal
Pool 48-49	<i>Ae. albopictus</i>	macho	E. Hidalgo	Pool 20-21	<i>Ae. albopictus</i>	machos	Panteón Rio florido

Los resultados del análisis del RNA por Nano Drob® nos indican que efectivamente obtuvimos RNA, ya que en todas las muestras se detectaron diversas concentraciones de RNA las cuales variaron de 0.5 ng/μl hasta 765.4 ng/μl. Mientras que el análisis de calidad del RNA mediante RT-PCR con primer diseñados para amplificación de actina que amplifica a 500 pb, demostraron la viabilidad de material genético, ya que los primers para actina lograron amplificar en todas las muestras probadas (Fig. 1).

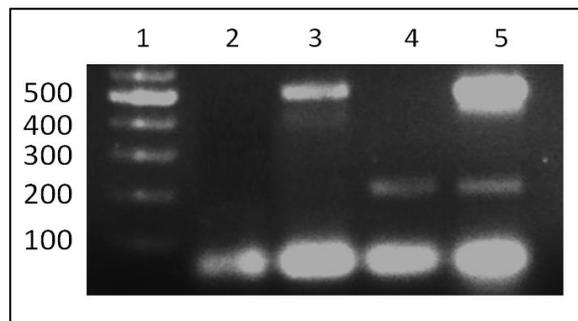




**Figura 1.-** Electroforesis en gel de agarosa de productos de RT-PCR duplex (tinción con bromuro de etidio al 2%). Línea1: Marcador de peso molecular 100 pb; líneas 2: controles negativo; línea 3, 4 y 5: pools de vivienda No 6, 24 y 47 positivos a actina; línea 6 y 7: pools de panteones positivos a actina.

### 5.5 Detección viral mediante RT-PCR dúplex

Previo al ensayo definitivo se realizó la estandarización de la RT-PCR con controles positivos para RNA de DENV, CHIKV y un mix de ambos controles. Esta estandarización nos confirmó la factibilidad de usar los primers para la detección de DENV y CHIKV en una RT-PCR dúplex (Fig. 2).

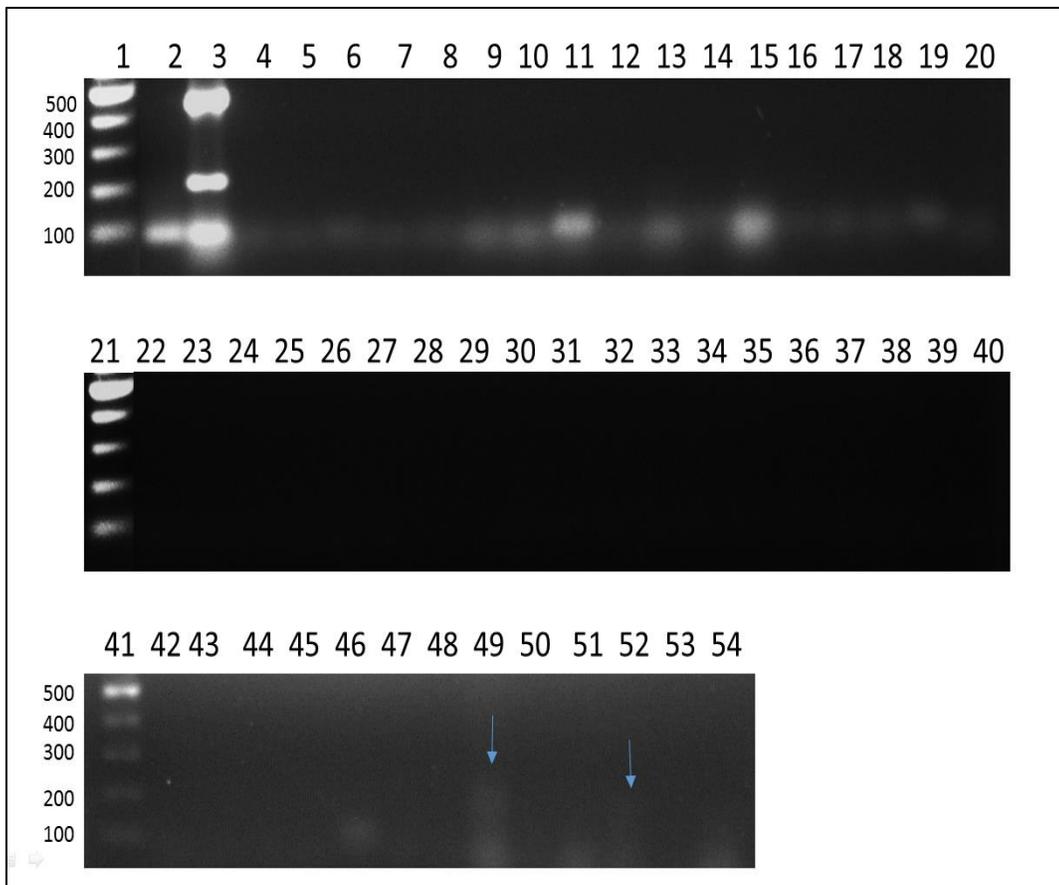


**Figura 2.-** Electroforesis en gel de agarosa de productos de RT-PCR duplex (tinción con bromuro de etidio al 2%). Línea1: Marcador de peso molecular 100 pb; líneas 2: controles negativo; línea 3: RNA control positivo para DENV (511 pb) ; línea 4: RNA control positivo para CHIKV (205 pb) ; línea 5: mix RNA control positivo para DENV-CHIKV (511 y 205 pb).

Finalmente se realizó la detección molecular por RT-PCR dúplex de DENV Y CHIKV de 49 pool de mosquitos colectados de viviendas, de los cuales 13 estaban conformados por hembras *Ae. aegypti* y 11 pools de machos colectadas en Tapachula; siete pool de hembras y cinco pool



de machos *Ae. aegypti* capturados en el Ejido Hidalgo; dos pools de hembras y uno de machos *Ae. aegypti* de Metapa; dos pools de hembras y uno de machos *Ae. aegypti* de Huixtla; un pool de cada sexo de *Ae. aegypti* de Rio florido y 3 pool de hembras y dos de machos *Ae. albopictus* del Ejido Hidalgo. Posterior a la RT-PCR se realizó la lectura mediante electroforesis. En las 49 muestras analizadas no se observan ninguna de las bandas de interés, la valides del ensayo se comprobó con la presencia de las bandas del control positivo y la ausencia de estas en el control negativo, sin embargo se observan algunas bandas tenues en las líneas 49 y 52, que corresponden a los pools 44 (machos *Ae. aegypti* de Rio florido) y 47 (hembras *Ae. albopictus* del Ejido Hidalgo) respectivamente (Fig. 3).

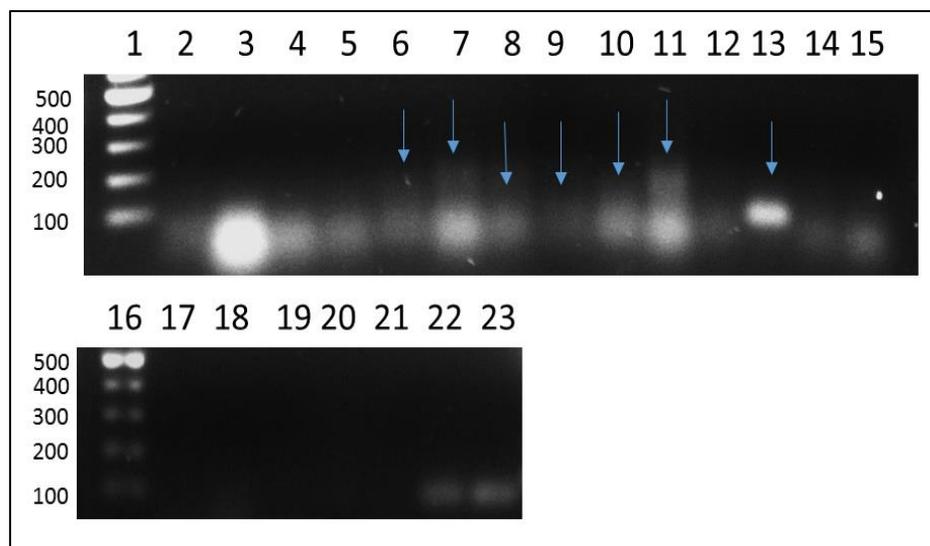


**Figura 3.-** Electroforesis en gel de agarosa de productos de RT-PCR dúplex (tinción con bromuro de etidio al 2%) de muestras obtenidas de viviendas. Línea 1: marcador de peso molecular (100 pb); líneas 2: controles negativo; línea 3: mix RNA control positivo para DENV-CHIKV (205 y 511 pb); línea 4: pool 1; línea 5: pool 2; línea 6: pool 3; línea 7: pool 4; línea 8: pool 5; línea 9: pool 6; línea 10: pool 7; línea 11: pool 8; línea 12: pool 9; línea 13: pool 10; línea 14: pool 11; línea 15: pool 12; línea 16: pool 13; línea 17: pool 14; línea 18: pool 15; línea 19: pool 16; línea 20: pool 17; línea 21: marcador de peso molecular (100 pb); línea 22: pool 18; línea 23: pool 19; línea 24: pool 20; línea 25: pool 21; línea 26: pool 22; línea 27: pool 23; línea 28: pool 24; línea 29: pool 25; línea 30: pool 26; línea 31: pool 27; línea 32: pool 28; línea 33: pool 29; línea 34: pool 30; línea 35: pool 31; línea 36: pool 32; línea 37: pool 33; línea 38: pool 34; línea 39: pool 35; línea 40: pool 36; línea 41: pool 37; línea 42: pool 38; línea 43: pool 39; línea 44: pool 40; línea 45: pool 41; línea 46: pool 42; línea 47: pool 43; línea 48: pool 44; línea 49: pool 45; línea 50: pool 46; línea 51: pool 47; línea 52: pool 48; línea 53: pool 49; línea 54: pool 50.



29; línea 34: pool 30; línea 35: pool 31; línea 36: pool 32; línea 37: pool 33; línea 38: pool 34; línea 39: pool 35; línea 40: pool 36; línea 41; marcador de peso molecular (100 pb); línea 42: pool 37; línea 43: pool 38; línea 44: pool 39; línea 45: pool 40; línea 46: pool 41; línea 47: pool 42; línea 48: pool 43; línea 49: pool 44; línea 50: pool 45; línea 51: pool 46; línea 52: pool 47; línea 53: pool 48; línea 54: pool 49.

Por otra parte se analizaron 21 pool colectados de panteones, nueve de estos pools estaban conformados por mosquitos de la especie *Ae. aegypti*, de los cuales un pool de hembras y dos de machos se obtuvieron en el panteón Jardín; un pool de cada sexo en el Panteón Municipal y dos pools por cada sexo en el panteón de Rio florido. Mientras que 12 pool se conformaron por mosquitos *Ae. albopictus*, de los cuales dos pool de hembras y uno macho provinieron del panteón jardín; un pool de hembras y dos de machos en el Panteón Municipal y cuatro pools de hembras y dos pools de machos del panteón de Rio florido. Tampoco se observan bandas definidas para ninguno de los virus en estudio, pero, al igual que en algunas muestras de viviendas, se logran apreciar bandas tenues de las líneas 6 y 7 los cual corresponden al pool 5 y 6 (machos *Ae. aegypti* de panteon Jardin), en la lineas 8 donde estan los pool 7 (machos *Ae. aegypti* del Panteon Municipal), en las linea 9 y 10 de los pools 8 y 9 (machos *Ae. aegypti* del panteon de Rio florido), la linea 11 correspondientes a el pools 10 (hembras *Ae. albopictus* del panteon Jardin) y la linea 13 donde esta el pool 12 (hembras *Ae. albopictus* del panteon municipal) (Fig. 4).

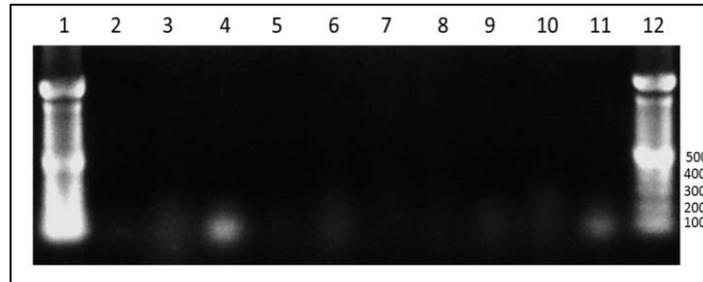


**Imagen 4.-** Electroforesis en gel de agarosa de productos de RT-PCR dúplex (tinción con bromuro de etidio al 2%) de muestras obtenidas de panteones. Línea1: marcador de peso molecular (100 pb); línea 2: pool 1; línea 3: pool 2; línea 4: pool 3; línea 5: pool 4; línea 6: pool 5; línea 7: pool 6; línea 8: pool 7; línea 9: pool 8; línea 10: pool 9; línea 11: pool 10; línea 12:



pool 11; línea 13: pool 12; línea 14: pool 13; línea 15: pool 14; línea 16: marcador de peso molecular (100 pb); línea 17: pool 15; línea 18: pool 16; línea 19: pool 17; línea 20: pool 18; línea 21: pool 19; línea 22: pool 20; línea 23: pool 21.

Los pools en los que no había plena seguridad de considerarlos negativos, se sometieron a un nuevo análisis, este último ensayo confirmó que los 69 pools analizadas fueron negativos para DENV y CHIKV en ambas especies y en sus respectivos sexos (Fig. 5).



**Imagen 5.-** Electroforesis en gel de agarosa de productos de RT-PCR dúplex (tinción con bromuro de etidio al 2%) de repeticiones de muestras obtenidas viviendas y panteones. Línea 1: marcador de peso molecular (100 pb); línea 2: control negativo; línea 3: pool 44; línea 4: pool 47; línea 5: pool 5; línea 6: pool 6; línea 7: pool 7; línea 8: pool 8; línea 9: pool 9; línea 10: pool 10; línea 11: pool 12; línea 12: marcador de peso molecular (100 pb).



## VI.- *Discusión*

En el muestreo entomológico se encontraron algunas diferencias en los niveles de infestación de las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en domicilios de personas con síntomas de casos probables y controles, en los municipios de la región del Soconusco, Chiapas. En la zona urbana *Ae. aegypti* fue la especie más abundante con 574 ejemplares colectados en comparación con un solo ejemplar de *Ae. albopictus*. Mientras que en la zona rural se colectaron 250 adultos *Ae. aegypti* y 96 especímenes de *Ae. albopictus*. En la zona rural también se observó mayor abundancia de la especie *Ae. aegypti* comparado con *Ae. albopictus*; sin embargo, la diferencia entre estas especies no es tan grande como en la zona urbana. Estos resultados son similares a un estudio anterior en el cual *Ae. aegypti* predominó sobre *Ae. albopictus* en viviendas (Casas-Martínez *et al.*, 2013). Por el contrario, en general en el muestreo en cementerios se obtuvo mayor abundancia de mosquitos de la especie *Ae. albopictus* comparada con *Ae. aegypti*. Sin embargo, en el panteón Jardín de la ciudad de Tapachula la abundancia de *Ae. aegypti* fue ligeramente mayor que *Ae. albopictus* (Tabla 5). La mayor abundancia de *Ae. aegypti* sobre *Ae. albopictus* en sitios extradomiciliares también ha sido reportada anteriormente (Casas-Martínez *et al.*, 2013). Sin embargo, en este estudio la mayor abundancia de adultos en cementerios fue obtenida por la especie *Ae. albopictus*.

Algunos autores recomiendan que los muestreos de mosquitos debe realizarse en donde hay mayores densidades del vector, esto con la finalidad de tener éxito en la vigilancia virológica y reducir costos de muestreo (Guedes *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2010). En este sentido aunque nuestros muestreos se realizaron durante el periodo de secas, la cantidad de mosquitos colectados es similar a la de otros estudios realizados en distintas partes del mundo (Urdaneta *et al.*, 2005; Thavara *et al.*, 2009; Pagès *et al.*, 2009; Das *et al.*, 2013; Dutta *et al.*, 2015; Díaz-González *et al.*, 2015; Pérez-Castro *et al.*, 2016).

La vigilancia de la carga vírica en mosquitos silvestres ha sido sugerida como un sistema de monitoreo sensible para la predicción y monitoreo de epidemias, ya que los mosquitos son indicadores de los virus que están en circulación durante su ciclo de alimentación sanguínea en hospederos humanos (Sánchez-Casas, 2013). La tasa de infección por DENV y CHIKV en aedinos, ha sido objeto de estudio en regiones donde las enfermedades causadas por estos virus son endémicas, ya que son complementarias en la vigilancia epidemiológica. Además



este tipo de estudios permite ubicar el vector como el elemento primordial e indispensable en el ciclo de transmisión durante las investigaciones epidemiológicas (Chow *et al.*, 1998; Liotta *et al.*, 2005).

En el presente trabajo de tesis se analizaron por RT-PCR 69 pool de mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* que se colectaron en viviendas y sitios extradomiciliares de localidades del Soconusco de Chiapas. Los resultados del análisis molecular de los mosquitos obtenidos en viviendas nos indican que es posible que durante los muestreos no se hayan colectado mosquitos infectados ya que no se obtuvo amplificación de genoma viral de DENV y CHIKV. Estos datos son similares a los obtenidos por Sanchez-Rodríguez *et al.* (2014) en mosquitos *Ae. aegypti* colectados en Nuevo León en los cuales no se logró detectar DENV. Por otra parte, en ese mismo estudio si detectaron DENV en *Ae. albopictus*, con una tasa de infección de 0.54/1000. En un estudio en Guerrero se pudo determinar la tasa de infección por DENV en mosquitos *Ae. aegypti*, las cuales fueron de 0.46 – 9.77 /1000 mosquitos para DEN-1 y de 30.99 / 1000 para DEN-2 (Dzul-Manzanilla *et al.* (2015). Por otra parte, en un estudio anterior en la región del Soconusco se determinó que la tasa de infección para CHIKV fue de 32.3/1000 en mosquitos *Ae. aegypti* (Díaz-González *et al.*, 2015). Asimismo, Dzul-Manzanilla *et al.* (2015), reportaron una tasa de infección en *Ae. aegypti* de 8.81/1000 mosquitos para CHIKV en el estado de Guerrero. Sin embargo, en el presente estudio no se determinaron mosquitos *Ae. aegypti* infectados con dicho virus. Una diferencia entre estos estudios y el presente es que ellos utilizaron una técnica de RT-PCR de tiempo real y en esta tesis se utilizó punto final.

Por otra parte, la probabilidad de encontrar mosquitos infectados aumenta al realizar este tipo de estudios en sitios con epidemia reciente, ya que la transmisión de la enfermedad es focalizada (Favier *et al.*, 2005). Si bien en el primer semestre del 2015 se dio el mayor número de casos de CHIKV, para el inicio de los muestreos en Noviembre del mismo año el número de casos había disminuido en región. Sin embargo, aún persistía la epidemia causada por CHIKV. Por otro lado, los casos de DENF aumentaron del 2014 al 2015(SINAVE, 2016b).



## ***VII.- Conclusiones***

La mayor infestación en viviendas por *Ae. aegypti* y en panteones por *Ae. albopictus* pueden tener importantes implicaciones en el control de estos mosquitos. Estos vectores están asociados con poblaciones humanas lo que conlleva a un mayor riesgo en la transmisión de DENV y CHIKV, y otras enfermedades transmitidas por vector. Por esta razón, el uso apropiado de la información puede aumentar la efectividad de las medidas de prevención y control de estos vectores. En cuanto a la detección viral, no se logró la amplificación de genoma viral de CHIKV y DENV, por tal motivo no fue posible determinar las tasas de infección de virus chikungunya y virus dengue en mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en la región Soconusco, del estado de Chiapas. Estos resultados no indican que dichos virus no estén circulando en esta región, ni que no existe transmisión natural del virus entre hospedero-vector-hospedero, mucho menos que haya erradicación de la enfermedad. Sin embargo, estos resultados nos indican que la prevalencia de casos de dengue y chikungunya en la época de muestreo pudo ser baja, lo que podría dificultar la detección viral en ambas especies de vectores colectadas.



### VIII. - Referencias

Agarwal, A., Dash, P. K., Singh, A. K., Sharma, S., Gopalan, N., Rao, P. V. L., ... & Reiter, P. (2014). Evidence of experimental vertical transmission of emerging novel ECSA genotype of chikungunya virus in *Aedes aegypti*. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 8 (7): e2990.

Bellini, R., Medici, A., Calzolari, M., Bonilauri, P., Cavrini, F., Sambri, V., ... & Dottori, M. (2012). Impact of Chikungunya virus on *Aedes albopictus* females and possibility of vertical transmission using the actors of the 2007 outbreak in Italy. *Plos One*, 7(2), e28360.

Bond, J. G., Casas-Martínez, M., Quiroz-Martínez, H., Novelo-Gutiérrez, R., Marina, C. F., Ulloa, A., & Williams, T. (2014). Diversity of mosquitoes and the aquatic insects associated with their oviposition sites along the Pacific coast of Mexico. *Parasit & Vectors*, 7, 41.

Bustamante, D. M., & Lord, C. C. (2010). Sources of error in the estimation of mosquito infection rates used to assess risk of arbovirus transmission. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(6), 1172-1184.

Carey, D. E. (1971). Chikungunya and dengue: a case of mistaken identity?. *Journal of the History of Medicine and Allied Sciences*, 26(3), 243-262.

Casas-Martínez, M., Rojas, J. C., & Ulloa A. Weber, M. B. C. (2013). Bionomía comparativa de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* y sus implicaciones en la transmisión del dengue en el sur de México (No. TE/614.432309727 C3).

Cassadou, S., Boucau, S., Petit-Sinturel, M., Huc, P., Leparc-Goffart, I., & Ledrans, M. (2014). Emergence of chikungunya fever on the French side of Saint Martin Island, October to December 2013. *Euro Surveill*, 19, 13.

Chen, C. F., Shu, P. Y., Teng, H. J., Su, C. L., Wu, J. W., Wang, J. H., ... & Wu, H. S. (2010). Screening of dengue virus in field-caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) by one-step SYBR green-based reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay during 2004–2007 in Southern Taiwan. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(10), 1017-1025.



Chow, V. T., Chan, Y. C., Yong, R., Lee, K. M., Lim, L. K., Chung, Y. K., ... & Tan, B. T. (1998). Monitoring of dengue viruses in field-caught *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes by a type-specific polymerase chain reaction and cycle sequencing. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 58(5), 578-586.

Das, B., Das, M., Dwibedi, B., Kar, S. K., & Hazra, R. K. (2013). Molecular investigations of dengue virus during outbreaks in Orissa state, Eastern India from 2010 to 2011. *Infection, Genetics and Evolution*, 16, 401-410.

Dash, P. K., Parida, M., Santhosh, S. R., Saxena, P., Srivastava, A., Neeraja, M., ... & Rao, P. L. (2008). Development and evaluation of a 1-step duplex reverse transcription polymerase chain reaction for differential diagnosis of chikungunya and dengue infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 62(1), 52-57.

Diallo, D., Sall, A. A., Diagne, C. T., Faye, O., Faye, O., Ba, Y., ... & Diallo, M. (2014). Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, 2011. *PloS One*, 9(10), e109442.

Díaz-González, E. E., Kautz, T. F., Dorantes-Delgado, A., Malo-García, I. R., Laguna-Aguilar, M., Langsjoen, R. M., ... & Weaver, S. C. (2015). First Report of *Aedes aegypti* Transmission of Chikungunya Virus in the Americas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(6), 1325-1329.

Dick, G. W. A. (1952). Zika virus (II). Pathogenicity and physical properties. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 46(5), 521-534.

Dick, O. B., San Martín, J. L., Montoya, R. H., del Diego, J., Zambrano, B., & Dayan, G. H. (2012). The history of dengue outbreaks in the Americas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(4), 584-593.

Dupont-Rouzeyrol, M., O'Connor, O., Calvez, E., Daures, M., John, M., Grangeon, J. P., & Gourinat, A. C. (2015). Co-infection with Zika and Dengue Viruses in 2 Patients, New Caledonia, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, 21(2), 381.



Dutta, P., Khan, S. A., Chetry, S., Dev, V., Sarmah, C. K., & Mahanta, J. (2015). First evidence of dengue virus infection in wild caught mosquitoes during an outbreak in Assam, Northeast India. *Journal of Vector Borne Diseases*, 52(4), 293.

Dzul-Manzanilla, F., Martínez, N. E., Cruz-Nolasco, M., Gutiérrez-Castro, C., López-Damián, L., Ibarra-López, J., ... & Ayora-Talavera, G. (2015). Arbovirus Surveillance and First Report of Chikungunya Virus in Wild Populations of *Aedes aegypti* from Guerrero, Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 31(3), 275-277.

Fagbami, A. H. (1979). Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *Journal of Hygiene*, 83(02), 213-219.

Fernández-Salas, I., Danis-Lozano, R., Casas-Martínez, M., Ulloa, A., Bond, J. G., Marina, C. F., ... & Díaz-González, E. E. (2015). Historical inability to control *Aedes aegypti* as a main contributor of fast dispersal of chikungunya outbreaks in Latin America. *Antiviral Research*, 124, 30-42.

Fischer, M., & Staples, J. E. (2014). Notes from the field: chikungunya virus spreads in the Americas-Caribbean and South America, 2013-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 63(22), 500-501.

García-Rejon, J., Loroño-Pino, M. A., Farfan-Ale, J. A., Flores-Flores, L., Rosado-Paredes, E. D. P., Rivero-Cardenas, N., ... & Lozano-Fuentes, S. (2008). Dengue virus–infected *Aedes aegypti* in the home environment. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 79(6), 940-950.

Gubler, D. J. (1997). Human behaviour and cultural context in disease control. *Tropical Medicine & International Health: TM & IH*, 2(11), A1-2.

Gubler, D. J. (1998). Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(3), 480-496.

Gubler, D. J. (1998). The global pandemic of dengue/dengue haemorrhagic fever: current status and prospects for the future. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, 27(2), 227-234.



Gubler, D. J. (2002). The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. *Archives of Medical Research*, 33(4), 330-342.

Gubler, D. J. (2006, October). Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. *Innovartis Foundation Symposium* (Vol. 277, p. 3). Chichester; New York; John Wiley; 1999.

Gubler, D. J. (2011). Dengue, urbanization and globalization: the unholy trinity of the 21 st century. *Tropical Medicine and Health*, 39(4SUPPLEMENT), S3-S11.

Guedes, D. R. D., Cordeiro, M. T., Melo-Santos, M. A. V., Magalhaes, T., Marques, E., Regis, L., ... & Ayres, C. F. J. (2010). Patient-based dengue virus surveillance in *Aedes aegypti* from Recife, Brazil. *Journal of Vector Borne Diseases*, 47(2), 67.

Halstead, S. B. (1991). The XXth century dengue pandemic: need for surveillance and research. *World health statistics quarterly. Rapport Trimestriel de Statistiques Sanitaires Mondiales*, 45(2-3), 292-298.

Hammon, W. M., Rundnick, A., & Sather, G. E. (1960). Viruses associated with epidemic hemorrhagic fevers of the Philippines and Thailand. *Science*, 131(3407), 1102-1103.

Higa, Y. (2011). Dengue vectors and their spatial distribution. *Tropical Medicine and Health*, 39(4 Suppl), 17.

Institut de Veille Sanitaire. Bulletin hebdomadaire international du 5 au 11 mars 2014. N°442. Recuperado el 5 de Enero del 2016, de : <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Bulletin-hebdomadaire-international/Tous-lesnumeros/2014/Bulletin-hebdomadaire-international-du-5-au-11-mars-2014.-N-442>.

Juliano, S. A., & Philip Lounibos, L. (2005). Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health. *Ecology Letters*, 8(5), 558-574.

Jupp, P. G., & mcintosh, B. M. (1988). Chikungunya virus disease. *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*, 2, 137-57.



Katholi, C. R., & Unnasch, T. R. (2006). Important experimental parameters for determining infection rates in arthropod vectors using pool screening approaches. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74(5), 779-785.

Khan, J., Khan, I., & Amin, I. (2016). A comprehensive entomological, serological and molecular study of 2013 dengue outbreak of swat, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Plos One*, 11(2), e0147416.

Kumarasamy, V., Prathapa, S., Zuridah, H., Chem, Y. K., Norizah, I., & Chua, K. B. (2006). Re-emergence of Chikungunya virus in Malaysia. *Medical Journal of Malaysia*, 61(2), 221.

Kuno, G., Chang, G. J. J., Tsuchiya, K. R., Karabatsos, N., & Cropp, C. B. (1998). Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *Journal of Virology*, 72(1), 73-83.

Kutsuna, S., Kato, Y., Takasaki, T., Moi, M., Kotaki, A., Uemura, H., ... & Hayakawa, K. (2014). Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014. *Euro Surveill*, 19(4), 1-5.

Lee-Ching Ng, Tan, L. K., Tan, C. H., Tan, S. S., Hapuarachchi, H. C., Pok, K. Y., ... & Leo, Y. S. (2009). Entomologic and virologic investigation of Chikungunya, Singapore. *Emerging Infectious Diseases*, 15(8), 1243.

Martínez, M. C., & Estrada, J. L. T. (2003). First evidence of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern Chiapas, Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, 9(5), 606.

Moore, D. Á., Causey, O. R., Carey, D. E., Reddy, S., Cooke, A. R., Akinkugbe, F. M., ... & Kemp, G. E. (1975). Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964-1970. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 69(1), 49-64.

Morrison, T. E. (2014). Reemergence of Chikungunya virus. *Journal of Virology*, 88(20), 11644-11647.

OPS/OMS (2016). Chikungunya; Datos estadísticos 48. Recuperado el 8 de Diciembre del 2016,



de:[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=readall&cid=5932&Itemid=40931&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=readall&cid=5932&Itemid=40931&lang=es)

Pagès, F., Peyrefitte, C. N., Mve, M. T., Jarjaval, F., Brisse, S., Iteman, I., ... & Grandadam, M. (2009). *Aedes albopictus* mosquito: the main vector of the 2007 Chikungunya outbreak in Gabon. *Plos One*, 4(3), e4691.

Pérez-Castro, R., Castellanos, J. E., Olano, V. A., Matiz, M. I., Jaramillo, J. F., Vargas, S. L., ... & Overgaard, H. J. (2016). Detection of all four dengue serotypes in *Aedes aegypti* female mosquitoes collected in a rural area in Colombia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(4), 233-240.

Powers, A. M., & Logue, C. H. (2007). Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *Journal of General Virology*, 88(9), 2363-2377.

Raharimalala, F. N., Ravaomanarivo, L. H., Ravelonandro, P., Rafaraso, L. S., Zouache, K., Tran-Van, V., ... & Ralisoa, B. O. (2012). Biogeography of the two major arbovirus mosquito vectors, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera, Culicidae), in Madagascar. *Parasit Vectors*, 5, 56.

Rivera-Ávila, R. C. (2014). Chikungunya fever in Mexico: confirmed case and notes on the epidemiologic response. *Salud Pública de México*, 56(4), 402-404.

Robinson, M. C. (1955). An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 49(1), 28-32.

Rueda, L. M. (2004). Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. Walter Reed Army Inst of Research Washington DC Department of Entomology.

Sánchez Casas, R. M. (2013). Identificación y serotipificación del virus dengue, densidades y tasa de infección de poblaciones domésticas de *Ae. aegypti* en Cancún, Quintana Roo, México (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).



Sanchez-Rodríguez, O. S., Sanchez-Casas, R. M., Laguna-Aguilar, M., Alvarado-Moreno, M. S., Zarate-Nahon, E. A., Ramirez-Jimenez, R., ... & Fernandez-Salas, I. (2014). Natural transmission of dengue virus by *Aedes albopictus* at Monterrey, Northeastern Mexico. *Southwestern Entomologist*, 39(3), 459-468.

Savage, H. M., Ledermann, J. P., Yug, L., Burkhalter, K. L., Marfel, M., & Hancock, W. T. (2015). Incrimination of *Aedes* (*Stegomyia*) *hensilli* Farner as an epidemic vector of Chikungunya virus on Yap Island, Federated States of Micronesia, 2013. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 92(2), 429-436.

Sim, S., & Hibberd, M. L. (2016). Genomic approaches for understanding dengue: insights from the virus, vector, and host. *Genome Biology*, 17(1), 1.

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (2016a). Boletines históricos. Recuperado el 8 de Diciembre del 2016, de [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/dgae/boletin/intd\\_historicos.html](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/dgae/boletin/intd_historicos.html)

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiologica (2016b). Panorama epidemiológico de fiebre por Dengue y Fiebre hemorrágica por Dengue. Recuperado el 8 de Diciembre del 2016, de [http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/panodengue/PANORAMAS\\_2015/Pano\\_dengue\\_sem\\_52\\_2015.pdf](http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/panodengue/PANORAMAS_2015/Pano_dengue_sem_52_2015.pdf)

Tan, C. H., Wong, P. S. J., Li, M. Z. I., Tan, S. Y. S., Lee, T. K. C., Pang, S. C., ... & Lu, D. (2011). Entomological investigation and control of a chikungunya cluster in Singapore. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(4), 383-390.

Thavara, U., Tawatsin, A., Pengsakul, T., Bhakdeenuan, P., Chanama, S., Anantapreecha, S., ... & Siriyasatien, P. (2009). Outbreak of chikungunya fever in Thailand and virus detection in field population of vector mosquitoes, *Aedes aegypti* (L.) And *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 40(5), 951.

Tsetsarkin, K. A., Chen, R., Sherman, M. B., & Weaver, S. C. (2011). Chikungunya virus: evolution and genetic determinants of emergence. *Current Opinion in Virology*, 1(4), 310-317.



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

Vega-Rúa, A., Lourenço-de-Oliveira, R., Mousson, L., Vazeille, M., Fuchs, S., Yébakima, A., ... & Vanlandingham, D. L. (2015). Chikungunya Virus Transmission Potential by Local *Aedes* Mosquitoes in the Americas and Europe. *Plos Desd Trop Dis* 9 (5): e0003780.

Vega-Rúa, A., Zouache, K., Girod, R., Failloux, A. B., & Lourenço-de-Oliveira, R. (2014). High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus. *Journal of Virology*, 88(11), 6294-6306.

Weaver, S. C. (1997). Vector biology in viral pathogenesis. *Viral pathogenesis*. Lippincott-Raven, New York, NY, 329-352.

Weaver, S. C., & Reisen, W. K. (2010). Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*, 85(2), 328-345.

World Health Organization (2014) Vector-borne diseases (Fact sheet N°387). Recuperado el 15 de Diciembre del 2015, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs387/en/>

World Health Organization (2016) Media center, Dengue and severe dengue. Recuperado el 8 de Diciembre del 2016, de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>

Zanluca, C., Melo, V. C. A. D., Mosimann, A. L. P., Santos, G. I. V. D., Santos, C. N. D. D., & Luz, K. (2015). First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(4), 569-572.

Zayed, A., Awash, A. A., Esmail, M. A., Al-Mohamadi, H. A., Al-Salwai, M., Al-Jasari, A., ... & Mnzava, A. (2012). Detection of Chikungunya virus in *Aedes aegypti* during 2011 outbreak in Al Hodayda, Yemen. *Acta Tropica*, 123(1), 62-66.

