

## Persistencia en la competencia vectorial de *Aedes albopictus* de Venezuela a una cepa asiática dengue 2

### *Vector competence persistence of Venezuelan Aedes albopictus for an Asian dengue-2 strain*

Yda Méndez<sup>1</sup>, Marifel Carrozza<sup>1</sup>, Darjaniva Molina P. de Fernández<sup>2</sup>, Karen Flores<sup>3</sup> & Flor Herrera<sup>1\*</sup>

#### RESUMEN

En Venezuela, existen poblaciones de *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) de diferente origen geográfico y estructura genética que difieren en la competencia vectorial para el virus dengue. Debido a que, recientemente, se reportó la presencia de *Aedes albopictus* (*Ae. albopictus*), es importante también conocer la competencia vectorial de esta especie para prever el riesgo epidemiológico el cual conlleva a su propagación. Se determinó la persistencia en la competencia vectorial de *Ae. albopictus* de Maracay, Venezuela a una cepa asiática dengue 2. Las especies de mosquitos *Ae. albopictus* y *Ae. aegypti* fueron alimentadas con una suspensión sangre-virus dengue 2 y luego de 20 días post-exposición viral se determinó la presencia del virus por el ensayo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en las diferentes partes de los insectos: abdomen (infección), patas/alas (diseminación) y cabeza (transmisión). Los resultados muestran que la cepa *Ae. aegypti* es más susceptible a la infección del abdomen (60 %) que la cepa de *Ae. albopictus* (37,5%); sin embargo, sólo en *Ae. albopictus* se encontró el virus presente en las patas/alas (100%) y cabezas (33%). La cepa de *Ae. albopictus* estudiada podría ser más competente para la transmisión del virus dengue asiático que la de *Ae. aegypti*. Este hallazgo es de gran importancia epidemiológica, ya que se demuestra que este vector aún no estando en su continente de origen, puede seguir siendo un vector eficiente y con el tiempo adecuarse a las cepas virales propias.

**Palabras clave:** *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, competencia vectorial, virus dengue asiático, Venezuela.

#### INTRODUCCIÓN

El dengue es la fiebre viral hemorrágica más extensamente distribuida y una de las arbovirosis más importantes desde el punto de vista epidemiológico a nivel mundial. La enfermedad es producida por

#### SUMMARY

In Venezuela, there are populations of *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*) with different geographic origins and genetic structure that differ in vector competence for dengue virus. Since recently, the presence of *Aedes albopictus* (*Ae. albopictus*) was reported, it is also important to know the vector competence of this species to predict the epidemiological risk which would bring its spread. The objective was to determine the vector competence persistence of *Ae. albopictus* from Maracay, Venezuela for an Asian dengue-2 strain. The two species of mosquitoes were fed with a blood-dengue 2 virus suspension and after 20 days post-exposure to virus, the presence of the virus was determined by the polymerase chain reaction assay in different parts of the insect: abdomen (infection), legs/wings (spread) and head (transmission). The results show that the strain *Ae. aegypti* is more susceptible to infection in the abdomen (60 %) that the strain of *Ae. albopictus* (37.5%); however, only in *Ae. albopictus* this virus was found in the legs /wings (100%) and heads (33%). The studied strain of *Ae. albopictus* may be more competent vector in the transmission of the dengue 2 virus than *Ae. aegypti*. This finding is of great epidemiological importance as this shows that even this mosquito not being in its continent of origin, it can still be an efficient vector and eventually become adapted to the native viral strains.

**Key words:** *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, vectorial competence, Asian dengue virus, Venezuela.

uno de los 4 serotipos del virus dengue, un flavivirus transmitido al humano por la picada del mosquito *Aedes* (OPS/OMS, 2010).

No existe una vacuna licenciada contra el dengue y la transmisión de la enfermedad se controla

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Carabobo (BIOMED-UC). Maracay, Edo. Aragua, Venezuela.

<sup>2</sup> Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y Salud Ambiental (CEEESA). Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldón" (MPPS). Maracay, Estado Aragua, Venezuela.

<sup>3</sup> Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental (MPPS). Maracay, Estado Aragua, Venezuela.

\*Autora de correspondencia: flormhq@gmail.com

previniendo la reproducción del vector (OPS/OMS, 2010). El virus dengue se ha detectado en mosquitos *Ae. aegypti* capturados en diferentes localidades de Venezuela lo cual los involucra en el ciclo de transmisión del virus en nuestro país (Urdaneta *et al.*, 2005). *Ae. albopictus* también está presente en Venezuela, aunque todavía no se ha detectado ninguno infectado por virus dengue (Navarro *et al.*, 2009; Martiradonna *et al.*, 2013).

Venezuela es un país hiperendémico para el dengue debido a la existencia de importantes poblaciones del vector *Ae. aegypti* todos los meses del año y a la circulación simultánea de los 4 serotipos del virus dengue (Camacho-García *et al.*, 2012) si a este escenario, se le suma la propagación de *Ae. albopictus*, la situación del dengue podría empeorar en los próximos años, por lo cual resulta prioritario estudiar si este vector asiático mantiene su capacidad de transmitir el virus dengue en territorio venezolano.

La dinámica de transmisión del virus dengue está asociada a factores propios del insecto vector, como la competencia vectorial (susceptibilidad del vector a la infección, replicación, diseminación y transmisión del virus dengue) y a factores inherentes al virus; como el serotipo y genotipo viral (Black *et al.*, 2002; Tabachnik, 2013). Además, esta dinámica se ve influenciada por factores extrínsecos y de conducta del mosquito como: la temperatura y humedad del medio ambiente, título de virus en el humano y hábitos de alimentación, los cuales influyen sobre características relacionadas con el vector como la longevidad, el período de incubación extrínseco y la abundancia del vector (Tabachnik, 2013; Gurugama *et al.*, 2010).

La hembra adulta del mosquito *Aedes* es hematófaga (a diferencia del macho que se alimenta solo del néctar de las flores) y por ende es el género de este mosquito involucrado en el ciclo biológico del virus dengue. El ciclo de transmisión del virus dengue se inicia cuando el mosquito *Aedes* se alimenta de una persona infectada con el virus en el período virémico. Si el mosquito es competente el virus se desarrolla y replica en primer lugar en el intestino medio del insecto y luego de superar algunas barreras a nivel local se disemina a través de la hemolinfa a otros órganos entre ellos las glándulas salivales del mosquito, donde el virus también debe

replicarse. Finalmente, el virus se transmite a través de la saliva infectada del mosquito, cuando éste pica a un hospedador vertebrado sano (Black *et al.*, 2002; Tabachnik, 2013). La competencia vectorial de los mosquitos es un fenómeno muy complejo que resultaría de la interacción de un gran número de genes del insecto, de interacciones genotipo x genotipo entre virus dengue y la especie de vector y diversos factores ambientales, en su gran mayoría desconocidos, que funcionan de forma coordinada (Tabachnik, 2013). Ahora bien, en condiciones ambientales controladas en el laboratorio, la competencia vectorial para arbovirus se ha asociado principalmente con barreras anatómicas, las cuales, entre otras, incluyen; la barrera de infección del intestino medio (MIB, midgut infection barrier), la barrera de escape del intestino medio (MEB, midgut escape barrier), la barrera de infección de las glándulas salivales (SIB, salivary gland infection barrier) y la barrera de escape de las glándulas salivales (SEB, salivary gland escape barrier) (Beerntsen *et al.* 2000). Se piensa que cada barrera para el virus dengue en *Aedes* está controlada por genes o grupos de genes específicos para cada una de estas. Actualmente, la base molecular de todas estas barreras se desconoce, pero se sabe que la respuesta inmune del insecto juega un rol principal en las mismas (Zhang *et al.*, 2010).

Investigaciones recientes indican que la competencia vectorial está influenciada también por interacciones genotipo x genotipo entre virus dengue y la especie de vector. Tales interacciones deben sumarse con los efectos causados de forma independiente por genes del vector y genes del virus (Lambrechts, 2011).

La competencia vectorial para la transmisión del dengue varía entre especies diferentes del mosquito *Aedes* (Black *et al.*, 2002). En Venezuela, se ha reportado que cuatro poblaciones diferentes de *Ae. aegypti*, con distintos origen geográfico y estructura genética, difieren en la competencia vectorial para el virus dengue 1 (Pernalet *et al.*, 2009; Herrera *et al.*, 2006). Estudios similares no se han realizado todavía en *Ae. albopictus* ya que su presencia en Venezuela es muy reciente. Investigar si la cepa de *Ae. albopictus* de Maracay mantiene su competencia en la transmisión del virus dengue 2, es importante para entender el riesgo que implicaría su coexistencia con *Ae. aegypti* en el país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Captura y cría de los mosquitos*

Las larvas de *Ae. albopictus* fueron capturadas en la Universidad Central de Venezuela en Maracay - Edo. Aragua por personal capacitado y criadas en condiciones controladas de laboratorio (28°C y 80% de humedad relativa) hasta obtener la generación F4 en el Laboratorio de Biología de Vectores y Reservorios del CEEESA. Aproximadamente, 250 hembras adultas (6 días de emergidas) fueron trasladadas al insectario del BIOMED para los experimentos de infección.

De la misma manera, un aproximado de 250 hembras *Ae. aegypti* (F4) de 6 días de emergidas (cepa La Pedrera de Maracay-Edo. Aragua) fueron criadas en la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental del Estado Aragua y posteriormente transportadas al insectario del BIOMED para los experimentos de infección.

### *Infección y mantenimiento de los mosquitos*

La infección experimental de las distintas poblaciones se logró mediante el método de alimentación artificial de papel parafinado (Rutledge *et al.*, 1964). El alimento consistió en una suspensión de glóbulos rojos humanos (previamente lavados con PBS) mezclados con suero fetal bovino (Pernalet *et al.*, 2009) y una suspensión de virus dengue 2 cepa 16681 con un título viral de  $1,6 \times 10^5$  UFP/ml. Las dos cepas del vector fueron expuestas, de manera independiente, a la misma ingesta viral ( $5,3 \times 10^4$  UFP/ml) y condiciones de ensayo. El virus utilizado en este estudio corresponde a la cepa de virus dengue 2 (16681), la cual fue aislada en Tailandia (paciente fallecido por SCD) y desde entonces ha pasado por diferentes líneas de células, gentilmente donado por el Laboratorio Regional para el Diagnóstico del Dengue y otras Enfermedades Virales (LARDIDEV). La suspensión sangre-virus fue introducida en los mosquitos de forma oral; método de elección cuando se estudia la susceptibilidad a la infección por el virus dengue en distintas partes del mosquito, ya que el mismo permite evaluar las barreras más importantes del insecto.

El método consiste de un alimentador artificial de vidrio, conectado a un baño térmico de

circulación mantenido a 37°C. La superficie de papel parafinado, a través de la cual el mosquito se alimenta, es atravesada por el aparato bucal del mosquito (probóscide) al momento de la alimentación (Rutledge *et al.*, 1964). La frecuencia con que las hembras de *Aedes* se alimentan con sangre está determinada por la necesidad de ingerir sangre para completar su ciclo gonotrófico (tiempo durante el cual los ovarios maduran hasta convertirse en folículos desarrollados completamente).

Durante la alimentación experimental, las hembras adultas de *Aedes* fueron expuestas (*ad libitum*) por el período de 1 hora a la ingesta sanguínea, tiempo suficiente para que todas las hembras se alimenten de la suspensión sanguínea hasta quedar repletas (Vazeille *et al.*, 2001). Luego se separaron las repletas (hembras engurgitadas: N° de mosquitos alimentados / N° de mosquitos expuestos) a otra jaula y se dejaron por 20 días post-exposición bajo condiciones controladas de laboratorio (28°C, 80% de humedad relativa) mantenidas con solución de sacarosa al 10%. El período de incubación del virus dengue en el vector (desde que es ingerido hasta que el virus se desarrolla en las glándulas salivales) es de aproximadamente 7-14 días, luego de este período el mosquito competente es capaz de transmitir el virus a un nuevo hospedador susceptible (Zhang *et al.*, 2010). Se dejaron 20 días post-exposición viral para asegurar la replicación del virus en las glándulas salivales de los vectores competentes (Zhang *et al.*, 2010).

### *Diseción y extracción del ARN total de los diferentes segmentos de mosquitos*

Pasado el período de incubación extrínseca (20 días post-alimentación), se determinó el porcentaje de hembras sobrevivientes (N° de mosquitos sobrevivientes / N° de mosquitos alimentados), se sacrificaron y se formaron grupos (de 10 individuos c/u) con las diferentes especies: de *Ae. albopictus* silvestre (8 grupos en total) y de *Ae. aegypti* silvestre (10 grupos). Los mosquitos fueron divididos en abdomen, (sitio donde se determinó el porcentaje de susceptibilidad a la infección oral por el virus dengue: N° de mosquitos infectados / N° de mosquitos expuestos), patas y alas (donde se determinó el porcentaje de diseminación viral: N° de mosquitos con infección en las patas/alas / N° de mosquitos infectados), y cabeza (el porcentaje de

transmisión, debido a la localización en esta parte de las glándulas salivales: N° de mosquitos con infección en la cabeza/ N° de mosquitos infectados ).

Los distintos segmentos de los mosquitos (grupos de 10 individuos) fueron distribuidos en tubos de 1 ml previamente identificados por grupo y cepa, para luego aislar el ARN total de las diferentes partes del mosquito.

La extracción del ARN total de los mosquitos infectados con el virus dengue se realizó mediante una adaptación del método del fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (Urdaneta *et al.*, 2005). Las muestras se procesaron por segmento (abdomen, cabeza, patas y alas) y una cepa de mosquito a la vez, para evitar la contaminación. Las muestras de ARN fueron cuantificadas a 260 y 280nm. Seguidamente, se realizó una electroforesis en gel de agarosa para verificar la calidad del mismo. Las muestras de ARN se ajustaron a 200 µg/mL.

*Diagnóstico del virus dengue 2 por Transcripción Reversa acoplada a la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR)*

La presencia del virus se determinó mediante el método de RT-PCR en un sólo paso para diagnóstico de dengue (Harris *et al.*, 1998), la cual fue confirmada por el método tradicional de RT-PCR anidada (Lanciotti *et al.*, 1992), utilizando el kit Access de Promega. La banda de dengue 2 es de 119 pb.

*Análisis estadístico*

Fueron aplicadas las pruebas Chi-cuadrado de independencia, mediante el programa Open Epi (Estadísticas epidemiológicas de código abierto para Salud Pública), Versión 3.03 (Dean *et al.*, 2015).

RESULTADOS

En la Tabla I, se muestra el número de individuos alimentados y sobrevivientes por grupo. La cepa de *Ae. albopictus* mostró un porcentaje significativamente menor de alimentación (44%) que la de *Ae. aegypti* (80%) bajo las mismas condiciones ( $P < 10^{-6}$ ). Con respecto a los individuos sobrevivientes luego de los 20 días post-infección, la cepa de *Ae. albopictus* mostró el mayor porcentaje de sobrevivientes (72%) que la cepa de *Ae. aegypti* (60%) y el resultado fue significativo ( $P= 0,013$ ).

Otro dato importante observado cualitativamente, es que la cepa de *Ae. aegypti* coloca muchos más huevos que la cepa de *Ae. albopictus*. Este resultado se menciona, aunque no estaba programado en la metodología, porque está directamente relacionado con la densidad del vector, parámetro que a su vez influye en la capacidad vectorial de estas especies.

En la Fig. 1 se muestra el resultado de la amplificación del virus dengue 2 a partir de muestras de abdomen de diferentes cepas de mosquitos *Aedes*. En la Fig. 1A, se observan los resultados para la cepa

**Tabla I. Porcentaje de hembras *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* alimentadas y sobrevivientes por grupo. Un total de 250 hembras de cada especie fueron expuestas a alimentación artificial y mantenidas en cautiverio 20 días post-exposición.**

Especie	Hembras Engurgitadas (%)	<i>P</i> *	Hembras Sobrevivientes (%)	<i>P</i> *
<i>Ae. aegypti</i>	80	<10-6	60	0,013
<i>Ae. albopictus</i>	44		72	

\*Prueba de independencia Chi Cuadrado

**Tabla II. Porcentaje de Infección, Diseminación y Transmisión del virus cepa asiática dengue 2, en mosquitos *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*.**

Especie	*Infección (%)	Diseminación (%)	Transmisión (%)
<i>Ae. aegypti</i>	60	0	0
<i>Ae. albopictus</i>	37,5	100	33

\*Prueba de independencia Chi Cuadrado:  $P = 0,317$

de *Ae. albopictus* infectados experimentalmente con el virus. Los grupos 4, 7 y 8 dieron un producto de amplificación de tamaño esperado (119 pb) y por lo tanto resultaron positivos a la infección con el arbovirus. Asimismo, en la Fig. 1B, se observa que 6 grupos de los 10 examinados de la cepa de *Ae. aegypti*, amplificaron la banda esperada para el virus dengue 2.

La diseminación del virus dengue se determinó por detección cualitativa del ARN viral en las muestras de patas/alas de los mosquitos expuestos al virus (20 dpe). En la Fig. 2A, se observan los resultados para la cepa de *Ae. albopictus*. Los grupos 4, 7 y 8 presentaron la banda esperada (119 pb), lo cual indicó la diseminación del arbovirus a las patas/alas. La cepa de *Ae. aegypti* no mostró ninguna amplificación; por lo tanto, el virus no se diseminó en esta población de mosquitos.

La competencia vectorial para la transmisión oral del virus dengue en las dos especies de *Aedes* se comparó determinando la presencia del ARN viral en las muestras de las cabezas de los insectos

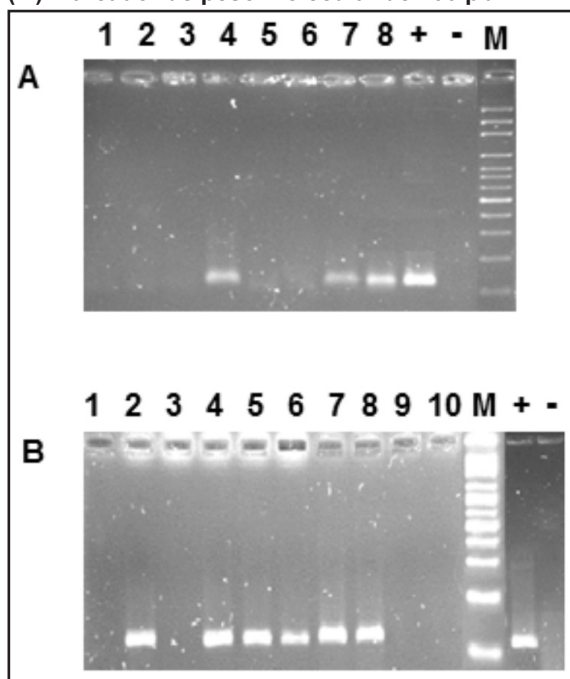
por localizarse en este sitio sus glándulas salivales. En la Fig. 3A puede apreciarse que sólo un grupo de los tres infectados de la población de *Ae. albopictus*, amplificó el producto del tamaño esperado (119 pb) y por lo tanto, resultó positivo a la transmisión del virus. La cepa *Ae. aegypti* resultó negativa a la amplificación del virus en la cabeza (Fig. 3B).

En la Tabla II pueden observarse los porcentajes de infección, diseminación y transmisión del virus dengue 2 en las dos cepas estudiadas. En *Ae. aegypti* la infección fue mayor (60%) a los 20 días, que en *Ae. albopictus* (37,5%) aunque el resultado no fue estadísticamente significativo ( $P = 0,317$ ). Se observa también que sólo en los mosquitos infectados de *Ae. albopictus*, el virus fue capaz de diseminarse (100%) y llegar hasta las glándulas salivales (33%).

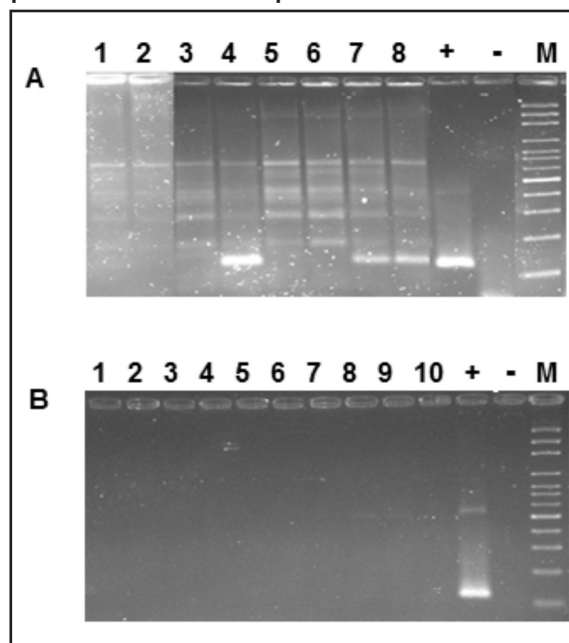
## DISCUSIÓN

Los resultados, estadísticamente muy fuertes, mostraron que la cepa de mosquitos *Ae. albopictus* se alimentó mucho menos, en las condiciones experimentales, que la de *Ae. aegypti*.

**Fig. 1. Amplificación del virus cepa asiática dengue 2 en muestras de abdomen de *Aedes* infectados con el virus, *Ae. albopictus* (A); *Ae. aegypti* (B); (+) control positivo; (-) control negativo de la RT-PCR; (M) marcador de peso molecular de 100 pb.**

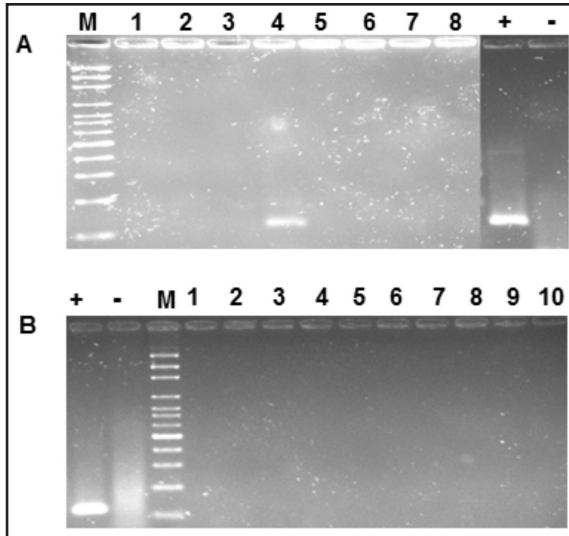


**Fig. 2. Amplificación del virus cepa asiática dengue 2 en muestras de patas/alas de los mosquitos *Aedes* expuestos a la infección viral. *Ae. albopictus* (A); *Ae. aegypti* (B); (+) control positivo; (-) control negativo; (M) marcador de peso molecular de 100 pb.**





**Fig. 3. Amplificación del virus cepa asiática dengue 2 en muestras de cabeza de mosquitos *Aedes* infectados con el virus. *Ae. albopictus* (A); *Ae. aegypti* (B); (+) control positivo; (-) control negativo; (M) marcador de peso molecular de 100 pb.**



Estas condiciones simulan más un ambiente urbano que uno rural: la densidad de los mosquitos fue alta y debieron alimentarse de una misma fuente de suministro. Por lo tanto, la mayor actividad hematófaga de la cepa *Ae. aegypti* podría explicarse porque estos mosquitos están más adaptados a un ambiente urbano que la cepa de *Ae. albopictus*. Esto, posiblemente, provocó competencia entre los mosquitos de una misma cepa, por el alimento y en estas condiciones la cepa de *Ae. aegypti* se alimenta mejor. Un trabajo que le da apoyo a esta hipótesis, realizado en diferentes hábitats de una provincia de China, ha reportado que *Ae. albopictus*, adaptado a las áreas urbanas, presentó un desarrollo de larvas y pupas más rápido y una mayor tasa de sobrevivencia de larvas a adultos que los *Ae. albopictus* encontrados en las áreas semiurbanas y rurales (Li *et al.*, 2014).

Otro dato que podría explicarse por ser *Ae. aegypti* más urbano que *Ae. albopictus* es el mayor número de huevos que coloca con respecto a *Ae. albopictus*. Este resultado debería ser estudiado exhaustivamente con ambas especies de mosquitos en condiciones naturales. Otros autores han trabajado también en ambientes urbanos (peri e intradomiciliarios) y han concluido que *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* pueden colocar huevos en ambos hábitats pero *Ae. aegypti* está mejor adaptado y coloca más huevos que *Ae. albopictus* (Serpa *et al.*, 2013).

Un meta-análisis demostró que los arbovirus reducen la sobrevivencia de los vectores y la magnitud de este efecto depende, entre otros factores, de cuales vectores y virus estén interactuando así como del tipo de infección (Lambrechts & Scott, 2009). En el presente trabajo, los mosquitos *Ae. albopictus* alimentados tuvieron una mayor sobrevivencia, estadísticamente significativa, que *Ae. aegypti* lo cual sugiere que la demanda metabólica para la reproducción viral afecta más la longevidad de este último mosquito. Esto es muy importante porque la mayor longevidad aumenta la probabilidad de transmitir enfermedades (Lambrechts & Scott, 2009). De tal manera que la relación entre los virus y sus insectos vectores no es necesariamente benigna y el grado de afectación en los mosquitos producirá diferencias en competencia vectorial entre diferentes especies y entre diferentes poblaciones de una misma especie (Lambrechts & Scott, 2009; Tabachnik, 2013).

Los resultados, aunque no estadísticamente significativos, mostraron que la tasa de infección por el virus dengue fue mayor en *Ae. aegypti* (60% vs 37,5%); sin embargo, la tasa de diseminación y de trasmisión del virus fue 100% y 33% en *Ae. albopictus* mientras que en *Ae. aegypti* fue 0% para ambas tasas. Estos resultados sugieren fuertemente que la cepa *Ae. albopictus* de Venezuela sigue siendo muy eficiente en la transmisión de cepas de virus de su mismo origen. Esto significa que, debido a la alta probabilidad de que simultáneamente circulen estos vectores y los virus, la transmisión sucederá con resultados inesperados (si es que no ya se están dando). Si a esto se le añade que *Ae. albopictus* tiene una gran capacidad en la transmisión transovárica (Gratz, 2004) y en adaptación a diferentes ambientes (Lambrechts *et al.*, 2010), la diseminación y mantenimiento del virus podría ocurrir en las diferentes localidades tal como ha sucedido en otros países (Lambrechts *et al.*, 2010). Además, los resultados de infección experimental sugieren que la cepa *Ae. albopictus* de Venezuela es más competente, si bien con una asociación débil, para la transmisión viral que la cepa *Ae. aegypti*.

La menor competencia vectorial de *Ae. aegypti* por el virus dengue con respecto a *Ae. albopictus* es un resultado sorprendente ya que *Ae. aegypti* es el principal vector del dengue en nuestro país; sin embargo, esto podría explicarse si se considera que dicho mosquito, como ya se mencionó

anteriormente, coloca un número muchísimo mayor de huevos que *Ae. albopictus* lo cual aumentaría su densidad, factor muy importante en las epidemias de dengue. Es decir, la competencia vectorial de *Aedes aegypti* sería menor que la del otro vector pero al colocar más huevos que *Ae. albopictus* compensaría esta debilidad y pasaría a tener una mayor capacidad vectorial.

En este trabajo surgen una serie de interrogantes que tendrían que ser aclaradas. En consecuencia, habría que realizar un estudio con un tamaño de muestra mucho mayor para detectar *Ae. aegypti* infectados con el virus dengue; asimismo, hacer estudios con otras cepas virales (especialmente autóctonas) para ver si este comportamiento es sólo de la cepa dengue 2 asiática e igualmente utilizar cepas de mosquitos de generaciones menores para ver si estas características son o no propias de mosquitos desarrollados en colonia.

Obviamente, las infecciones experimentales no duplican exactamente las interacciones complejas que ocurren entre los mosquitos, los virus y el ambiente en la naturaleza. No obstante, estos resultados son un alerta para las autoridades de salud pública, con el fin que tomen en cuenta las características particulares del nuevo vector *Ae. albopictus* para el diseño de las estrategias de control vectorial del dengue.

#### *Conflicto de intereses*

Los autores del trabajo declaramos que no existen conflictos de intereses.

#### AGRADECIMIENTOS

A los investigadores Guillermo Comach y Daría Camacho por donar gentilmente la cepa de virus dengue 2 (16681) utilizada en la infección experimental de los mosquitos, a la Dra. Irma Ágrela y al Dr. Carlos Espino por su valiosa orientación en los experimentos de infección y en el análisis estadístico respectivamente. Se agradece también al personal del CEEESA y de la Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental por el suministro de los vectores. Este trabajo fue financiado por el Ministerio del Poder Popular Para la Ciencia, Tecnología e Innovación, a través del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología; Proyecto Misión Ciencia N° 2008000911-1.

#### REFERENCIAS

- Beerntsen B., James A. & Christensen B. (2000). Genetics of mosquito vector competence. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **64**: 115-137.
- Black W., Bennett K., Gorrochotegui-Escalante N., Barillas-Mury C., Fernández-Salas I., *et al.* (2002). Flavivirus Susceptibility in *Aedes aegypti*. *Arch. Med. Res.* **33**: 379-388.
- Camacho-García D., Ferrer E., Tenorio A., Franco L. & Comach G. (2012). Epidemiología molecular de los virus Dengue. *Bol. Mal. Salud Amb.* **52**: 1-13.
- Dean A. G., Sullivan K. M. & Soe M. M. (2015). *OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health*. Documento en línea: [http://www.openepi.com/Menu/OE\\_Menu.htm](http://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm). (Consultado: 2015, Diciembre 26).
- Gratz N. (2004). Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Med. Vet. Entomol.* **18**: 215-227.
- Gurugama P., Garg P., Perera J., Wijewickrama A. & Seneviratne S. (2010). Dengue viral infections. *Indians J. Dermatol.* **55**: 68-78.
- Harris E., Roberts G., Smith L., Selle J., Kramer L., Valle S., *et al.* (1998). Typing of Dengue Viruses in Clinical Specimens and Mosquitoes by Single-Tube Multiplex Reverse Transcriptase PCR. *J. Clin. Microbiol.* **36**: 2634-2639.
- Herrera F., Urdaneta L., Rivero J., Zoghbi N., Ruiz J., Carrasquel G., *et al.* (2006). Population genetic structure of the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **101**: 625-633.
- Lambrechts L. (2011). Quantitative genetics of *Aedes aegypti* vector competence for dengue viruses: towards a new paradigm?. *Trends Parasitol.* **27**: 111-114.
- Lambrechts L. & Scott T. W. (2009). Mode of transmission and the evolution of arbovirus virulence in mosquito vectors. *Proc. Biol. Sci.* **276**: 1369-1378.

- Lambrechts L., Scott T. W. & Gubler D. J. (2010). Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **4**: 1-9.
- Lanciotti R. S., Calisher CH., Gubler D. J., Chang G. J. & Vorndam A. V. (1992). Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* **30**: 545-551.
- Li Y., Kamara F., Zhou G., Puthiyakunnon S., Li Ch., Liu Y., *et al.* (2014). Urbanization increases *Aedes albopictus* larval habitats and accelerates mosquito development and survivorship. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **8**: e3301. doi:10.1371/journal.pntd.0003301.
- Martiradonna G., Silva J., Molina M., Salcedo L., Sánchez V., Amaya W., *et al.* (2013). *Aedes (Stegomyia) albopictus*: (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) en Maracay-Aragua, Venezuela, aumento en su distribución geográfica. *Bol. Mal. Salud Amb.* **53**: 196-197.
- Navarro J-C., Zorrilla A. & Moncada N. (2009). Primer registro de *Aedes albopictus* (Skuse) en Venezuela. Importancia como vector de Dengue y acciones a desarrollar. *Bol. Mal. Salud Amb.* **49**: 161-166.
- OPS/OMS (2010). *Dengue: Guías para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control*. WHO Press. La Paz, Bolivia.
- Pernalet M., Fernández Z., Rivera M., Zarzour J., Ruiz J., Rivero J., *et al.* (2009). Susceptibilidad a la infección oral por virus DEN-1 en poblaciones de *Aedes aegypti* de Venezuela. *Salus online* **12**: 45-57.
- Rutledge L., Ward R. & Gould D. (1964). Studies on the feeding response of mosquitoes to nutritive solutions in a new membrane feeder. *Mosq. News* **24**: 407-419.
- Serpa L., Monteiro G., de Lima A., Voltolini J., de Brito M., Barbosa G., *et al.* (2013). Study of the distribution and abundance of the eggs of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* according to the habitat and meteorological variables, municipality of São Sebastião, São Paulo State, Brazil. *Parasites Vectors* **6**: 321-332.
- Tabachnick W. (2013). Nature, Nurture and Evolution of Intra-Species Variation in Mosquito Arbovirus Transmission Competence. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **10**: 249-277.
- Urdaneta L., Herrera F., Pernalet M., Normig Z., Rubio-Palis Y., Barrios R., *et al.* (2005). Detection of dengue viruses in field caught *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Maracay, Aragua State, Venezuela by type-specific polymerase chain reaction. *Infect. Genet. Evol.* **5**: 177-184.
- Vazeille M., Mousson L., Rakatoarivony I., Villeret R., Rodhain F., Duchemin J., *et al.* (2001). Population genetic structure and competence as a vector for dengue type 2 virus of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from Madagascar. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **65**: 491-497.
- Zhang M., Zheng X., Wu Y., Gan M., He A., Li Z., *et al.* (2010). Quantitative Analysis of Replication and Tropisms of Dengue Virus Type 2 in *Aedes albopictus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **83**: 700-707.

Recibido el 24/03/2015  
Aceptado el 28/12/2015