



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

Desarrollo de un atrayente acústico en trampas para captura de mosquitos transmisores de dengue, zika y chikungunya

INFORME DE PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Biólogo/a

Presentado por:

Katherine Anabel Albán Morales

Edison Gerardo Bosque Cabascango

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2018

DEDICATORIA

Katherine Albán Morales

El presente proyecto se lo dedico a Diosito, a mi madre Jackelin, a mi padre Oswaldo, a mi hermano Paolo, a mis tías Martha e Irma y a muchos otros seres amados, se los dedico con todo mi corazón por su eterno apoyo y confianza depositada en este ser (:

Edison Bosque Cabascango

Se lo dedico a mis padres Gerardo y Sofía, y a mis viejos José, Misael, María y Blanca de los que tuve la dicha de aprender de su eterna sabiduría y un poco de locura transmitida en pequeñas dosis.

AGRADECIMIENTOS

Katherine Albán Morales

Mis más sinceros agradecimientos al apoyo incondicional de Diosito, mi madre y tías que con una de sus sonrisas bastaron para hacerme feliz. Agradezco de corazón a mis amigos que hicieron más placentera mi estancia en la universidad ☺ Les mando las mejores vibras del universo, bendiciones y espero tengan una buena y bonita vida.

Edison Bosque Cabascango

Sin más que añadir desde mi corazón agradezco a la madre tierra por ofrecer la sabiduría y el sustento vital y económico a mi familia.

Y con todo mi ser agradezco a toda mi familia por el cariño, amor y bendiciones ofrecidas, y por último y no menos importante a mis amigos los nuevos y los viejos que quedan, espero verlos pronto cumpliendo sus sueños más anhelados, buena vida y buen caminar.

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Albán Morales Katherine Anabel y Bosque Cabascango Edison Gerardo* damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”

Katherine Anabel Albán Morales

Edison Gerardo Bosque Cabascango

EVALUADORES

Paolo Piedrahita PhD.

PROFESOR TUTOR

Diego Morales MSc.

CO- TUTOR

Diego Gallardo Mgr.

PROFESOR DE LA MATERIA

RESUMEN

El *Aedes aegypti* es uno de los vectores, transmisores de enfermedades, más predominante en el mundo. Ecuador en el presente año, se sitúa como el sexto país con más casos de dengue del continente. Es por esta razón que el estudio de su ecología y biología es de principal importancia para la salud pública. Sin embargo el uso de trampas de captura de individuos son ineficientes para capturar hembras, al ser estas las que transmiten enfermedades llegan a ser de interés para el estudio de arbovirus. El presente estudio pretende diseñar un atrayente acústico de uso versátil para trampas de luz tipo CDC de mosquitos vectores de arbovirus, mediante la integración de conocimientos de bioacústica de *Ae. aegypti*. Para el análisis de la bioacústica se utilizaron individuos F1 pertenecientes a Babahoyo y Quinindé criados en laboratorio. Se utilizó un micrófono unidireccional, una consola Numark y una laptop HP. Las grabaciones se realizaron individualmente a cada espécimen en condiciones controladas durante un minuto cada uno. Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas en las frecuencias de machos y hembras de Babahoyo ($w=0$, $p<0.05$), y no para Quinindé ($w=127$, $p>0.05$). Sin embargo, entre las dos localidades se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de los machos ($w=300$, $p<0,05$), y no en hembras ($w=169.5$, $p>0,05$). Nuestros resultados indican que la implementación de este diseño bioacústico en trampas tipo CDC es versátil y que las variaciones en las frecuencias en los individuos podrían estar dadas aparentemente por aspectos morfológicos e impronta genética.

Palabras Clave: *Aedes aegypti*, Vector, Bioacústica, Frecuencia, Trampas de luz.

ABSTRACT

Aedes aegypti is one of the most predominant vectors of disease transmission in the world. Ecuador in the present year, is in the sixth country with the most cases of dengue in the continent. It is for this reason that the study of its ecology and biology is of primary importance for public health. However, the use of traps that capture individuals are inefficient to capture females, since the females are the one that transmit the diseases and are of interest for the studies of arboviruses. The present study pretends to design an acoustic attractor of versatile use for CDC type light traps of mosquito vectors of arboviruses, by the integration of bioacoustics knowledge of *Ae. aegypti*. For the analysis of bioacoustics, there were used F1 individuals from Babahoyo and Quinindé, which were raised in captivity. A unidirectional microphone, a Numark console and an HP laptop were used, the recordings were made individually to each specimen under controlled conditions for one minute each specimen. The results obtained, showed significant differences in the frequencies of males and females of Babahoyo ($w=0$, $p<0.05$) and not for Quinindé ($w=127$, $p>0.05$). However, between the two locations, significant differences were found in the frequency of the males ($w=300$, $p<0,05$) and not in females ($w=169.5$, $p>0,05$). Our results indicate that the implementation of this bioacoustics design in CDC traps is versatile and the variations in frequencies of the individuals could be apparently due to morphological aspects and genetic imprinting.

Keywords: *Aedes aegypti*, Vectors, Bioacoustics, Frequency, Light traps.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS	V
SIMBOLOGÍA.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
CAPÍTULO 1	1
1. Introducción.....	1
1.1 Descripción del problema	3
1.2 Justificación del problema	4
1.3 Objetivos	8
1.3.1 Objetivo General.....	8
1.3.2 Objetivos Específicos.....	8
1.4 Marco teórico	8
1.4.1 Distribución geográfica de mosquitos del género <i>Aedes</i>	10
1.4.2 Biología del <i>Aedes aegypti</i>	12
1.4.3 Bioacústica	17
1.4.4 Bioacústica en mosquitos	18
CAPÍTULO 2	20
2. Metodología.....	20
2.1 Muestras	20
2.2 Software y equipos.....	21
2.3 Experimentación	21
2.4 Análisis de las frecuencias	21
2.5 Análisis estadísticos	22
CAPÍTULO 3	23

3.	Resultados Y Análisis.....	23
3.1	Frecuencias individuales	23
3.2	Frecuencias por localidad.....	24
3.3	Frecuencias entre localidades	25
CAPÍTULO 4.....		27
4.	Conclusiones Y Recomendaciones	27
4.1	Conclusiones.....	29
4.2	Recomendaciones.....	29
ANEXOS		30
BIBLIOGRAFÍA		33

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
OPS	Organización Panamericana de la Salud.
MSO	Ministerio de Salud Pública.
CDC	Centro de Control y Prevención de enfermedades.
CRNV	Centro de Referencia Nacional de Vectores.
INSPI	Instituto de Investigación en Salud Pública.
SE	Semana Epidemiológica.
DG	Dengue Grave.
DCSA	Dengue Con Signos de Alarma.
BG-GAT	Biogents Gravid <i>Aedes</i> Trap.
EVS	Vigilancia del Virus de la Encefalitis.
CO ₂	Dióxido de carbono.

SIMBOLOGÍA

Hz	Hercio
kHz	Kilohercio
s	Segundos

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Zonas favorables para la el desarrollo del <i>Aedes aegypti</i> 1	Error! Marcador no definido.
Figura 1.2. Presencia de <i>Aedes aegypti</i> en Ecuador	13
Figura 1.3. Ciclo de vida del mosquito <i>Aedes aegypti</i>	15
Figura 1.4. Dimorfismo sexual de mosquito <i>Aedes aegypti</i>	17
Figura 3.1. Espectrogramas Frecuencias (kHz) V. Tiempo (s)	24
Figura 3.2. Frecuencias de hembras y machos <i>Aedes aegypti</i> de la localidad de Los Ríos – Babahoyo	25
Figura 3.3. Frecuencias de hembras y machos <i>Aedes aegypti</i> de la localidad de Quinindé - Esmeraldas	26
Figura 3.4. Gráfico de caja de bigotes muestra la distribución de las medianas de las frecuencias de machos y hembras de las localidades de Babahoyo y Quinindé	27

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades del dengue, zika y chikungunya representan a nivel mundial un riesgo para la salud humana, debido a su rápida transmisión y distribución geográfica. Los registros presentados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el 2018 muestran que anualmente se producen aproximadamente 390 millones de infecciones por dengue. En 1970 se presentaron epidemias de dengue grave en 9 países a nivel mundial; en el 2008 se reportó que la enfermedad era endémica en más de 100 países del continente Asiático, Africano y Americano. En Japón se reportó un brote de dengue tras un periodo de ausencia de más de 70 años. Mientras que, en el 2015; 2.35 millones de casos fueron reportados en la región de las américas, con tendencias que indican un incremento en el número de casos en los años posteriores (OMS, 2018). Por otro lado, los casos de zika han ido en aumento desde su aparición por primera vez en África en 1947. Posteriormente en el 2014 se presentaron los primeros registro en América y en el 2015 se evidenció la rápida expansión en casi todo el continente (Maguiña & Rodas, 2016) con 175.063 casos de infección en 48 países y regiones del continente americano de acuerdo a los informes anuales presentados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el 2016 (OPS, 2016). Del mismo modo, desde el primer brote de chikungunya registrado en el Sur de Tanzania en 1952 se ha evidenciado su expansión geográfica en el continente americano en el 2013; en el 2015 varios países fueron afectados con un total de 693.489 casos sospechosos; y en el 2016 los casos se redujeron a un total de 349.936 casos sospechosos por las estrategias de control y erradicación del vector implementadas por los respectivos gobernantes (OMS, 2017).

La transmisión de las enfermedades del dengue, zika y chikungunya, se da por los mosquitos del género *Aedes*, específicamente por las especies *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* (OMS, 2017). Estas especies de mosquitos prosperan en ambientes de zonas tropicales y subtropicales (*Ae. aegypti*) y en zonas templadas y templadas-frías (*Ae.*

albopictus) (OMS, 2017). En Ecuador la presencia de estas enfermedades afecta en un mayor porcentaje a las zonas costeras del Pacífico, donde el dengue es considerado endémico con 10.104 casos confirmados en el 2017 (Cevallos et. al 2018). A su vez, los casos de infección por zika se han expandido rápidamente en el Ecuador reportándose los dos primeros casos en el 2015 y para el 2017 ya se habían confirmado 2.398 casos en las provincias del Guayas, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas (Subsecretaría Nacional de Vigilancia de la Salud Pública, 2018). La preocupación se incrementa debido a la correlación existente entre la presencia del virus zika y la presencia de microcefalia en niños recién nacidos a causa de la exposición de las gestantes frente al virus (Maguiña & Rodas, 2016). El informe del Ministerio de Salud Pública (MSP) muestra que desde mediados del año 2016 hasta finales de febrero del 2018 se confirmaron 17 nacimientos con transmisión vertical de zika, sin presentar malformaciones congénitas de mujeres positivas y sospechosas de infección por el virus en las provincias de Manabí, Santo Domingo de los Tsáchilas y El Oro (Subsecretaría Nacional de Vigilancia de la Salud Pública, 2018). Mientras tanto, los reportes generados por el MSP en Ecuador revelaron que, desde el primer caso registrado en la ciudad de Loja en el 2013, hasta marzo del 2015 se habían presentado 11.897 casos de chikungunya en la provincia de Guayas (MSP, 2015). A causa de los altos números de casos reportados de dengue, zika y chikngunya y sus efectos negativos en la salud humana; ha surgido la necesidad de elaborar herramientas que faciliten la captura de los organismos vectores. No obstante, las trampas elaboradas actualmente para la captura de los mosquitos vectores presentan limitaciones en relación a la captura de individuos de *Ae. aegypti* en estadios adultos, ya que los indicadores de prevalencia vectorial se encuentran relacionados con la densidad poblacional de hembras adultas (Barrera, 2015). Adicionalmente, las trampas actuales, capturan de forma indiscriminada otros insectos no objetivos.

Las herramientas utilizadas para el control del *Ae. aegypti* se basan en la captura de los individuos mediante trampas; las cuales poseen atrayentes lumínicos (trampas desarrolladas por el Centro de Control y Prevención de enfermedades de Estados Unidos (CDC)) y químicos con simuladores de las sustancias que expulsa el ser humano a través de la piel. Sin embargo, para elaborar estrategias de control y erradicación de los vectores; es necesario incrementar el número de capturas de hembras adultas del género *Aedes*. La captura de mosquitos permite a los institutos de salud pública y de

investigación probar diversos métodos de control de plagas; pruebas de pesticidas; y de reproducción, así como la identificación de enfermedades que transmite el vector.

En el Ecuador, el insectario del Centro de Referencia Nacional de Vectores (CRNV), perteneciente al Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública “Dr. Leopoldo Izquieta Pérez” (INSPI) ubicado en la ciudad de Quito, es uno de los centros encargados del estudio de la ecología y biología de este tipo de vectores transmisores de enfermedades de importancia médica. El principal objetivo del CRNV es realizar una investigación multidisciplinaria en vectores artrópodos de enfermedades (dengue, zika y chikungunya) de importancia médica con el objetivo de disminuir el impacto de éstas en la población ecuatoriana (INSPI, 2018). Entre sus responsabilidades también se encuentra realizar la identificación taxonómica y molecular de vectores artrópodos, para realizar una línea base de investigación de estos vectores; y determinar la distribución espacio temporal de los vectores en el territorio ecuatoriano (INSPI, 2018).

Durante el apareamiento, los mosquitos emiten señales bioacústicas específicas para machos y hembras, en el que el macho se sincroniza con la frecuencia de la hembra durante el vuelo (Cator L. J., Arthur, Harrington, & Hoy, 2009). En un experimento realizado en el campus de la Universidad James Cook, Cairns-Australia, se reportaron las frecuencias del tono de vuelo de hembras, *Ae. aegypti* (484 Hz y 560 Hz), y de los machos (715 Hz) (Johnson & Ritchie, 2016). El mismo estudio demostró que durante el apareamiento tanto los machos como las hembras compartían una frecuencia del tono de vuelo de 1200 Hz (Cator L. J., Arthur, Harrington, & Hoy, 2009), permitiéndoles reconocer las frecuencias de los tonos de vuelo por sexo, género y especie.

1.1 Descripción del problema

Los mosquitos *Ae. aegypti* son vectores de enfermedades (dengue, zika, chikungunya) que afectan a la salud humana. Actualmente las trampas atrayentes de mosquitos no son eficientes para atraer hembras debido a que los atrayentes no son especie-específicos para el *Ae. aegypti* y el número de hembras capturadas no es significativo para fines investigativos (análisis en laboratorio en la vigilancia de arbovirus). Es por esta razón, que en el presente estudio pretende diseñar un atrayente bioacústico, mediante el análisis de las frecuencias del aleteo de individuos machos y hembras del *Ae. aegypti*,

el cual es usado en la atracción del sexo opuesto, para su futura implementación en trampas de luz tipo CDC, aumentando así el número de capturas de hembras potencialmente infectadas por los virus del dengue, zika y/o chikungunya.

1.2 Justificación del problema

El mosquito *Ae. aegypti* se encuentra prácticamente en todo el planeta, a excepción de los continentes Antártico y Ártico; se han reportado casos de dengue desde 1779 a 1780 en zonas tropicales y subtropicales de América, Asia y África (CDC, 2015). Las hembras de los mosquitos son hematófagas a diferencia de los machos, razón por la cual diferentes tipos de patógenos pueden ser transmitidos por estos mosquitos como el dengue. El virus ingresa a las células epiteliales del abdomen del mosquito generando una nueva generación que se distribuirá por todo el cuerpo. La transmisión de patógenos se da mediante la saliva del mosquito que pasa a través de la proboscis durante la picadura (CDC, 2015).

En el transcurso del presente año, Ecuador ha reportado 1.776 casos de dengue hasta la semana epidemiológica (SE) 23; 2 casos de dengue grave (DG); y 54 casos de dengue con signos de alarma que representan el 0,11% y 3,04 % respectivamente del total de casos (MSP, 2018). Por consiguiente, Ecuador se convierte en el sexto país de América con más casos de dengue reportados en el 2017 y en lo que va del 2018 (OPS, 2018).

Otra de las enfermedades transmitidas por este vector es el zika. La OPS estima un incremento en el número de casos (2.413) sospechosos y confirmados en Ecuador, entre las SE 14 y 20 del 2017, en comparación con el año 2016 en el que se reportaron 2.946 casos confirmados (Subsecretaría Nacional de Vigilancia de la Salud Pública, 2018). En contraste con lo sucedido en el resto de suramérica; se presentó una disminución en el número de casos desde la SE 14 del 2017 (OPS, 2017).

Los síndromes congénitos asociados al virus del zika como malformaciones con y sin presencia de microcefalia son de importancia médica. Los casos reportados se han presentado mayormente en pacientes inmunodeprimidos. Hasta la actualidad, se continúan realizando investigaciones sobre la relación de estas malformaciones y el virus durante el período de gestación (Valdés, 2016). En el 2017, del total de personas

infectadas, el grupo de edades con más porcentaje de infección fue de 20 a 49 años quienes representan el 60,04 %; y de este grupo el 82,6% lo conforman mujeres en estado de gestación (Subsecretaria Nacional de Vigilancia de la Salud Pública, 2018).

. En el año 2016 se reportaron 1.860 casos de chikungunya con mayor incidencia en la provincia de El Oro (Subsecretaria Nacional de Vigilancia de la Salud Pública, 2017). Sin embargo, en la semana SE 48 del 2017, se reportaron 196 casos de chikungunya en los que se presentaron 2 muertes en todo el territorio nacional (OPS, 2017).

Dados las altas tasas de incidencias de las enfermedades transmitidas por los mosquitos *Aedes*, se han elaborado herramientas para la captura de estos individuos y sus posteriores análisis en laboratorio para el control de poblaciones y presencia de arbovirus. Entre las herramientas usadas actualmente en campo se encuentran las trampas de captura: ovoposición; colgantes; con sensores de luz; y atrayentes químicos (Ver Anexo A).

Mientras que las herramientas destinadas a su eliminación son los pesticidas e insecticidas. Por otro lado, existen métodos genéticos para el control de la densidad poblacional de los vectores. Estos métodos se basan en la alteración genética de los mosquitos vectores (mosquitos transgénicos). La empresa Oxitec, liberó mosquitos machos modificados genéticamente para producir la muerte en individuos jóvenes antes de alcanzar la edad reproductiva (fase adulta) (Lissardy, 2015). De esta manera se controla la diseminación de las enfermedades que estos vectores transmiten.

El control de la densidad poblacional del vector se realiza mediante el uso trampas de ovoposición, las cuales capturan a las hembras que ingresan a depositar sus huevos mediante el uso de adhesivos colocados en su interior. Las trampas de oviposición presentes en el mercado son las Biogents Gravid *Aedes* Trap (BG-GAT), las cuales ofrecen un ambiente oscuro y húmedo idóneo para que la hembra deposite sus huevos (Biogents, 2018).

Existen trampas de similares características, pero con la implementación de un atrayente químico, como es el caso de las BG-Sentinel, BG-mosquitaire, y trampas colgantes (BG-Mosquitito) como las más usadas en el mercado. Entre los atrayentes más usados para

este tipo de trampas son: el BG-sweetscen y el BG-Lure los cuales imitan el olor del ser humano mediante la implementación de tres componentes (ácido láctico, ácido graso y amoniaco). Los atrayentes deben ser cambiados en promedio de 2 a 5 meses, y de igual manera usan energía eléctrica para poder diseminar los atrayentes al ambiente.

La BG-Sentinel utiliza un ventilador con el fin de generar una corriente que impide la salida de los mosquitos (Biogents, 2018). Por otro lado, la BG-mosquitaire usa redes en su interior que capturan individuos, al igual que las trampas BG-Mosquitito. Las trampas de vigilancia del virus de la encefalitis (EVS) por sus siglas en inglés, se asemejan funcionalmente a las trampas colgantes, la cual cuenta con una malla en un contenedor para la captura de mosquitos y usa como atrayente luz blanca y hielo seco que al evaporarse generara dióxido de carbono (CO₂) (Contracostamosquito, 2012).

La trampa de luz tipo CDC usa como atrayente la luz blanca, estas utilizan un foco de 6 Voltios (V) ubicado en la parte superior y mediante un ventilador en su parte inferior succiona a los individuos atraídos por la luz blanca. Este ventilador genera una corriente de arriba hacia abajo, impidiendo el escape por la malla de los individuos. De acuerdo con el estudio de Maciel de Frietas et. al (2006), sobre la efectividad de captura de mosquitos *Ae. aegypti* de trampas CDC, estas capturaban especies de mosquitos *Culex quinquefasciatus* machos y en menor porcentaje los del género *Aedes* (Freitas, Eiras, & Oliveira, 2006).

El octenol y el CO₂ son usados comúnmente como aditivos a las trampas para mejorar su eficacia. El octenol es un atrayente que es químicamente variable dependiendo de las especies objetivo y de la ubicación geográfica en la que se coloque la trampa (Canyon & Hii, 1997). Es un compuesto que se encuentra en la piel humana, por lo que es usado ampliamente para mejorar la eficiencia de captura de individuos como las trampas BG-Sentinel y EVS. Mediante este compuesto es posible incrementar la captura de individuos de especies tales como *Cx. tarsalis* en el caso del uso de BG-Lure y para trampas EVS el uso de hielo seco incrementa el número de capturas de *An. punctipennis* (Irish, Chandre, & N'Guessan, 2008). Por otro lado, el CO₂ es usado como resultado de la atracción de los mosquitos hacia el CO₂ liberado por el ser humano durante la respiración. De esta manera, se emula esta acción en trampas como la BG-mosquitaire mediante la implementación de un tanque de CO₂. El uso de este tipo de trampas implica

un alto consumo de CO₂, aproximadamente un kilogramo por día, por lo que se utiliza solo para realizar una detección rápida de la presencia o ausencia de mosquitos en un determinado sector (Kröckel, Rose, Eiras, & Geier, 2006).

Entre las herramientas utilizadas para el control de la abundancia poblacional de los mosquitos vectores de enfermedades, se encuentran los insecticidas. El uso de insecticidas representa una contaminación para el ser humano y a nivel ambiental, por la cantidad de químicos usados para su elaboración (organofosfatos). Además, la herramienta ya no es considerada eficiente, debido a la resistencia que han desarrollado varias especies frente a los insecticidas (Benelli, 2015). Se ha demostrado esta resistencia en poblaciones de *Ae. aegypti* en Brasil. Los resultados mostraron que existen dos poblaciones de *Ae. aegypti* en Ceará que se encuentran bajo una fuerte presión de selección por organofosfatos, lo cual pone en duda la efectividad de los insecticidas usados para el control de la población del vector en campo (Lima et. al 2011).

Con respecto al comportamiento de cortejo del *Ae. aegypti*, se conocía que los mosquitos machos eran los únicos capaces de reconocer las frecuencias del aleteo de las hembras y que estas no tenían la capacidad de reconocer las frecuencias emitidas por el macho (Robert, 2009). En contraste con lo anterior, en un estudio realizado por Robert (2009) sobre la comunicación de los mosquitos; demostró que las hembras no eran las únicas en emitir una señal de sonido atractiva, sino que eran capaces de participar activamente en una interacción acústica con el macho (dúo de apareamiento). Estudios posteriores realizados por Cator et al. (2011), reportaron el comportamiento de apareamiento de *Ae. aegypti* en Tailandia, donde se registró la primera grabación de las frecuencias del aleteo del *Ae. aegypti* en enjambre y la dinámica de los mosquitos en pareja en su ambiente natural. Estos estudios demuestran que la acústica desempeña un rol importante en el comportamiento de apareamiento del *Aedes* (Cator L. J., Arthur, Ponlawat, & Harrington, 2011) y por ende en la atracción del sexo opuesto. Así mismo, Johnson en conjunto con Ritchie en el 2015, realizaron estudios sobre la explotación de los tonos de vuelo de las hembras *Ae. aegypti* en la atracción de los machos con el fin de mejorar las capturas de las trampas Gravid *Aedes* (Johnson & Ritchie, 2015).

La innovación de usar un atrayente acústico en las trampas convencionales podría aumentar el número de capturas de mosquitos hembras de *Ae. aegypti*, al simular la

frecuencia del aleteo de los mosquitos machos. Mediante la captura de las hembras *Aedes*, se podrían realizar estudios en laboratorio sobre vigilancia de arbovirus y generar nuevas técnicas viables y factibles para la prevención y control de la densidad poblacional de estos mosquitos a escala nacional. De esta manera, se podría contribuir con el control de las enfermedades del dengue, zika y chikungunya.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Diseñar un atrayente acústico de uso versátil en el campo para trampas de mosquitos vectores de arbovirus, mediante la integración de conocimientos de bioacústica de *Ae. aegypti*.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Identificar las frecuencias acústicas del *Ae. aegypti* macho y hembra de diferentes localidades.
- Evaluar las frecuencias acústicas identificadas de *Ae. aegypti* macho y hembra para futura implementación en trampas de luz tipo CDC.

1.4 Marco teórico

Los organismos capaces de transmitir enfermedades que van desde un individuo infectado por un determinado patógeno a otro individuo, generando impactos negativos en la salud del individuo, se los conocen como vectores (OMS, 2014). El vector recepta el patógeno de un portador infectado (animal o humano) y es capaz de transmitirlo a dos tipos de portadores: intermediario (animal) y/o portador humano. El modo de transferencia del patógeno se da mediante mordiscos; picaduras e infección de tejidos expuestos. La mayoría de los vectores transmisores de enfermedades son los insectos. Estos organismos ingieren los microorganismos patógenos en la sangre del portador infectado y lo transmiten a otro portador al ingerir su sangre (insectos hematófagos) (OMS, 2014). A este tipo de transmisión se la conoce como transmisión biológica, en la que la participación del artrópodo es el actor principal para que el microorganismo patógeno sea capaz de completar su ciclo biológico y consecuentemente transmitir la enfermedad en el nuevo portador (Fundación IO, 2017).

Las infecciones víricas del dengue, zika y chikungunya son transmitidas a través de los mosquitos hembras infectadas del orden Díptera, de la familia Culicidae y del género *Aedes*, principalmente de las especies *Ae. aegypti* (dengue, zika, chikungunya) y *Ae. albopictus* (chikungunya). Cabe recalcar, que la especie *Ae. aegypti* es la más representativa en la transmisión de enfermedades vectoriales. Dentro de esta familia se encuentran otros géneros tales como: *Culex*, transmisor de las enfermedades del Nilo occidental y encefalitis virales; y *Anopheles*, transmisor de la malaria.

A nivel mundial se registran aproximadamente 700.000 defunciones anualmente a causa de enfermedades transmitidas por vectores, como lo son el paludismo, enfermedad de Chagas, malaria, fiebre amarilla, encefalitis japonesa, dengue, entre otras. De acuerdo a las estadísticas presentadas por la OMS, las enfermedades transmitidas por vectores artrópodos representan alrededor del 17% de las enfermedades infecciosas. Teniendo en cuenta que los factores principales para la distribución y transmisión de enfermedades son las condiciones demográficas, geográficas, sociales, económicas, políticas y medioambientales de una determinada región. En un artículo realizado por Cruz (2002), de la Oficina Sanitaria Panamericana de la Salud, se destaca que las acciones implementadas por los servicios médicos y los programas de control no evidencian el cumplimiento de sus objetivos, debido a la influencia de factores sociales, económicos, administrativos y políticos, de cada país. Cruz, también menciona que, en los años 50 y 60, las campañas de erradicación del *Ae. aegypti* mostraron resultados efectivos, ya que se había cumplido con el objetivo de erradicar el vector en 21 países de América. Sin embargo, en los años posteriores, debido al escaso monitoreo, evaluación y abandono de las actividades para el control del vector, se produjo la reinfestación en los países en los que antes se había logrado su erradicación (Cruz R. R., 2002). Lo anterior sugiere que al igual que los aspectos sociales, los dirigentes gubernamentales, desempeñan un rol importante en el cumplimiento de las actividades de los programas para el control de vectores.

Las zonas tropicales presentan con mayor frecuencia la presencia de enfermedades transmitidas por vectores. Las condiciones de saneamiento público no son las adecuadas para contrarrestar los efectos negativos provocados por los brotes de enfermedades en la población. Más aún, los constantes cambios climáticos (variación en temperatura y precipitaciones) que se presentan actualmente propician las condiciones

óptimas para la reproducción y desarrollo de vectores. Estas condiciones les permiten a los vectores, extender su tiempo de permanencia en ciertas épocas del año y ampliar su distribución geográfica a regiones o países que presentaban condiciones no favorables para la reproducción del vector (OMS, 2014). De igual manera, el crecimiento poblacional acelerado y la expansión descontrolada en zonas urbanas y rurales favorecen progresivamente la transmisión de enfermedades por mosquitos. Con los asentamientos humanos se generan estructuras que sirven de reservorios para la reproducción, crecimiento y desarrollo de estos organismos en el medio. Así también, el aumento en los viajes y transportes nacionales e internacionales, favorecen la distribución global de las enfermedades vectoriales (Rentokil, 2018).

Actualmente, las enfermedades vectoriales con mayor crecimiento a nivel mundial son el dengue, con un incremento significativo en los últimos 50 años, seguido del zika y chikungunya, de acuerdo a los reportes de la OMS. Se conoce que la enfermedad del dengue es considerada endémica en más de 100 países, donde antes se encontraba presente en tan solo 9 países en el año 1970.

1.4.1 Distribución geográfica de mosquitos del género *Aedes*

Los mosquitos del género *Aedes* se encuentran ampliamente distribuidos en las zonas tropicales y zonas templadas de latitudes 35°N y 35°S. En el caso de *Ae. aegypti*, se demostró su presencia por primera vez en África, mientras que *Ae. albopictus* se presentó por primera vez en el Sudeste de Asia, de ahí su nombre común: mosquito tigre asiático. Ambas especies se expandieron por todo el globo terráqueo, llegando a proliferar en el continente americano (Velázquez et. al 2016) (Velázquez, y otros, 2016). En Ecuador, la presencia de *Ae. aegypti* predomina en las regiones Costa de las ciudades de Guayaquil, Manta, Chone, Portoviejo, Machala, Babahoyo, Santo Domingo, Esmeraldas y Cumandá; y en la región Amazónica en las ciudades de Puyo, Tena, Macas, El Coca y Nueva Loja; de acuerdo al informe realizado por el INSPI en el 2013 (INSPI, 2013).

En la figura 1.2, es posible observar que aproximadamente 4.8 millones de personas se encuentran expuestas a la presencia del *Ae. aegypti* en la región Costa, en la ciudad de Guayaquil, de acuerdo a datos recopilados durante el 2013. Por otro lado, en un informe

realizado por el INSPI (2014), es posible visualizar la distribución espacial del *Ae. aegypti* en un mapa; en el que se integraron variables ambientales y socioeconómicas relacionadas a la ecología del mosquito. La figura 1.1 muestra los sitios en los cuales se ha registrado la presencia del *Ae. aegypti*, presentándose con mayor incidencia en la región Costa. Estos análisis, son una herramienta útil para reconocer los lugares focales en los que se podría presentar *Ae. aegypti* y su posible distribución espacial en los años siguientes.

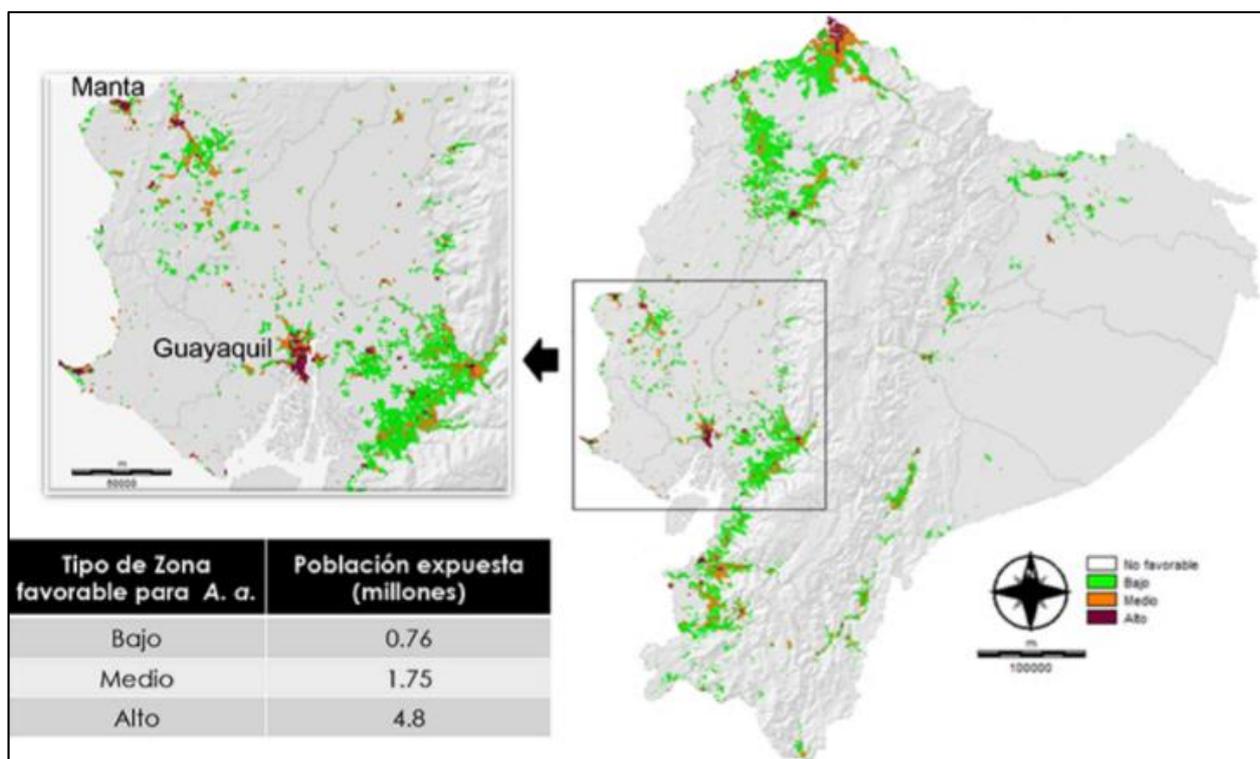


Figura 1.1: Zonas favorables para la el desarrollo del *Aedes aegypti*

Fuente (INSPI, 2014)

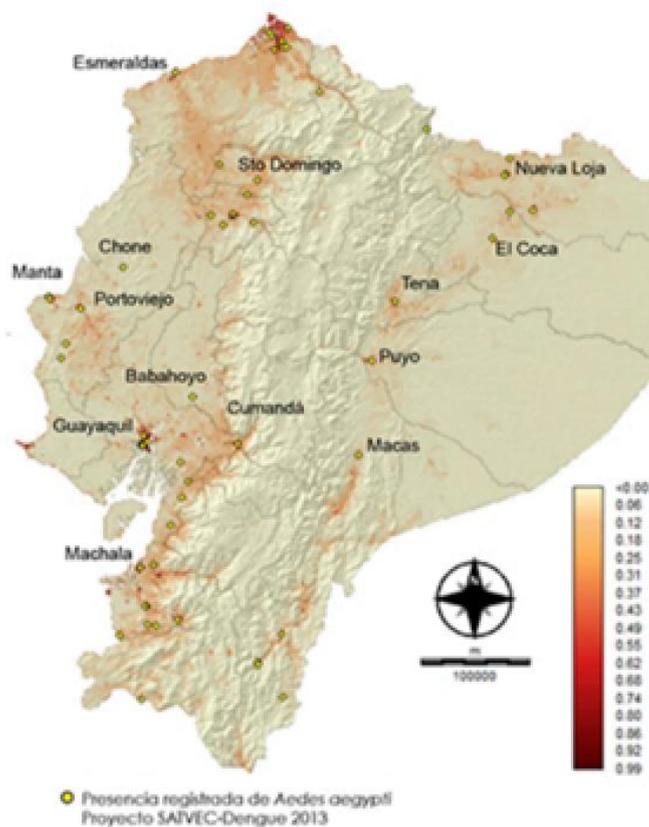


Figura 1.2: Presencia de *Aedes aegypti* en Ecuador, 2013
Fuente (INSPI, 2014).

1.4.2 Biología del *Aedes aegypti*

El mosquito *Ae. aegypti* es infectado por el virus en el intestino medio, para luego desplazarse a las glándulas salivales en un período de 8 a 12 días (período de incubación). Una vez que el virus ha sido inoculado dentro del vector, éste es capaz de

transmitir el virus al ser humano mediante la picadura del mosquito. El ciclo de vida del *Ae. aegypti* es de aproximadamente 10 días, desde la fase de huevo hasta la fase adulta (ver figura 1.3). El primer estadio (huevo) se desarrolla en un rango de 2 a 3 días y los huevos son depositados en reservorios de agua (Fernandez, 2008). Los huevos del *Ae. aegypti* han desarrollado una estrategia adaptativa que les permite sobrevivir en ambientes de desecación, por un período de 6 a 8 meses (Fondo de las Naciones Unidas para la infancia (UNICEF), 2016), (Freitas, Eiras, & Oliveira, 2006).

El rango de temperatura óptimo para el crecimiento y desarrollo larval de *Ae. aegypti* es de 25 a 30°C (Manrique Saide, Delfin González, Parra Tabla, & Ibáñez Bernal, 1998). La supervivencia de los huevos y larvas están condicionadas por la relación inversamente proporcional existente entre la temperatura y la viscosidad del agua. Es decir, a medida que aumenta la temperatura la viscosidad disminuye, lo cual dificulta que las larvas se mantengan en la superficie del cuerpo de agua, haciendo que se hundan y mueran (Beserra, Freitas, Souza, Fernandes, & Santos, 2009). Los huevos pueden llegar a medir hasta 1 mm de largo, son de color blanco inicialmente y posteriormente se tornan de un color negro. Una vez finalizada la fase de huevo, se desarrollan las larvas que comprenden 4 fases y alcanzan una longitud de 6 mm aproximadamente. Morfológicamente las larvas poseen estructuras laterales denominadas espículas torácicas de quitina y peine de escamas unilinear, ubicadas en el octavo segmento y presentan un sifón negro. La alimentación en la fase larvaria se basa en el consumo de organismos planctónicos que albergan en los reservorios en los que se desarrollan las larvas. Durante la fase larval, los organismos tienen la capacidad de resistir temperaturas menores a 10°C y mayores a 42°C. Después de 5 a 7 días, tiempo que demora el desarrollo completo de las larvas, pasa a la fase de pupa o crisálida, en un rango de temperatura de 28°C y 32°C y en un período de 1 a 3 días (Fernandez, 2008). Cabe recalcar que el tiempo que demoran las larvas y la pupa en completar su desarrollo puede extenderse de 2 a 3 días, como lo demostraron Silert y Navarro-Silva (2002), donde las larvas pueden desarrollarse en un periodo de 5 a 10 días. Mientras que las pupas pueden completar su desarrollo en un periodo de 2 a 3 días (Beserra, Freitas, Souza, Fernandes, & Santos, 2009). Finalmente, el mosquito completa su desarrollo y crecimiento en la fase adulta (2-4 semanas) (UNICEF, 2016).

Beserra et al. (2009), realizó un estudio sobre el ciclo de vida del *Ae. aegypti* en diferentes grados de contaminación del agua. De esta manera, se propuso evaluar el efecto de Los diferentes grados de calidad del agua en el desarrollo del mosquito *Ae. aegypti*, considerando las variables del periodo de desarrollo, viabilidad del huevo, larva y pupa, longevidad y fecundidad de los individuos adultos. En su estudio observó que se presentaba un alto porcentaje (60%), en relación a la viabilidad de las larvas en aguas sin cloro. Mientras que en otros estudios se demostró que la supervivencia de las larvas estaba por encima del 92% a una temperatura de 26°C. Sin embargo, a pesar de observar una disminución en la supervivencia y viabilidad larval del *Ae. aegypti* en aguas de alcantarillado, las larvas presentaron el desarrollo completo en aguas con alto grado de contaminación, al igual que en los demás tratamientos (agua de lluvia, agua clorada, efluente anaerobio con filtros) (Beserra, Freitas, Souza, Fernandes, & Santos, 2009). Por otra parte, se ha comprobado que los factores ambientales favorables para una especie de mosquitos son diferentes para otra especie. Los mosquitos *Anopheles*, dependen de factores ambientales (vegetación, turbidez del agua, precipitación y fauna) para el crecimiento de las larvas y para la abundancia poblacional. Sin embargo, los mosquitos del género *Culex*, presentan denso-dependencia de las propiedades del cuerpo de agua y micro-hábitats, en lugar de la turbidez de la columna de agua (Dejenie, Yohannes, & Assmelash, 2011). Generalmente las larvas de mosquitos al ser organismos filtradores se alimentan de partículas orgánicas, especialmente de algas, bacterias y de otros microorganismos; y tienden a integrar en su dieta carbohidratos y proteínas de animales (Dejenie, Yohannes, & Assmelash, 2011).

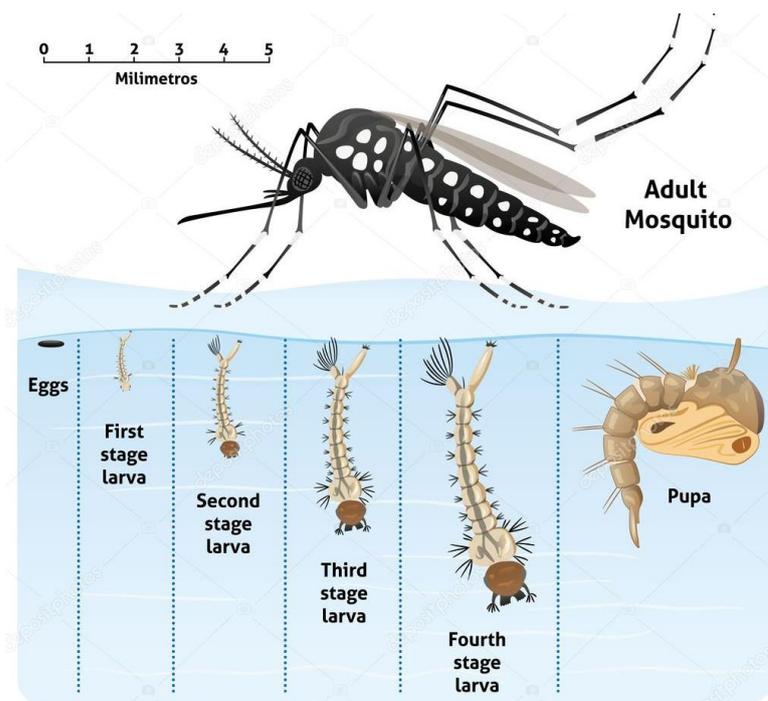


Figura 1.3: Ciclo de vida del mosquito *Aedes aegypti*. Fuente (Deposiphotos, 2009)

El *Ae. aegypti* adulto es de color negro, con puntos o franjas blancas distribuidas alrededor del tórax, tarsos, tibia y fémures de las patas y puede llegar a medir hasta 7mm (Fernandez, 2008). Existe dimorfismo sexual en la especie, el cual se presenta específicamente en las estructuras de las antenas del macho y de la hembra (ver figura 1.4). Los machos debido a la necesidad de identificar y captar las frecuencias del aleteo de las hembras, han desarrollado una mayor cantidad de flagelos a lo largo de la antena. Las ondas sonoras son captadas a través de los flagelos y pasa al órgano de Johnston. Este órgano traduce la información de las ondas en frecuencias acústicas que le permiten al macho identificar a las hembras de su misma especie y de otra especie. En contraste con lo anterior, las hembras poseen una menor cantidad de flagelos en la antena, debido a que dedican la mayor parte de su tiempo de vida a la búsqueda de alimento (sangre humana o animal) para obtener las fuentes de proteínas y producir los huevos. Las hembras han desarrollado la capacidad de detectar a sus presas mediante el olfato, permitiéndoles encontrar las fuentes alimenticias con mayor rapidez. Las sustancias químicas que el humano o animal expulsa del cuerpo, mediante la sudoración y respiración (CO₂), son los atrayentes principales de las hembras (SC Johnson, 2017) que se alimentan durante el día y al atardecer. Los machos por el contrario, se alimentan durante su etapa adulta, únicamente del néctar de las plantas (Baker, 2013). Cabe

mencionar, que por cada picadura que realizan las hembras *Ae. aegypti* para alimentarse, ponen huevos y en un lote pueden llegar a poner de 100 a 200 huevos. En promedio las hembras pueden poner hasta 5 veces en un periodo de 2 semanas hasta 1 mes durante su vida; dependiendo de las condiciones ambientales que favorezcan la supervivencia del organismo (SC Johnson, 2017). Los huevos son depositados preferentemente en reservorios de agua, envases plásticos, tanques de agua, envases de desechos sólidos, maceteros, en general, en cualquier recipiente que contenga agua. Usualmente los mosquitos encuentran sus zonas de criaderos cerca de asentamientos humanos. Por ende, los lugares de criadero para los mosquitos se incrementan con el aumento de la urbanización (Cruz R. R., 2002).

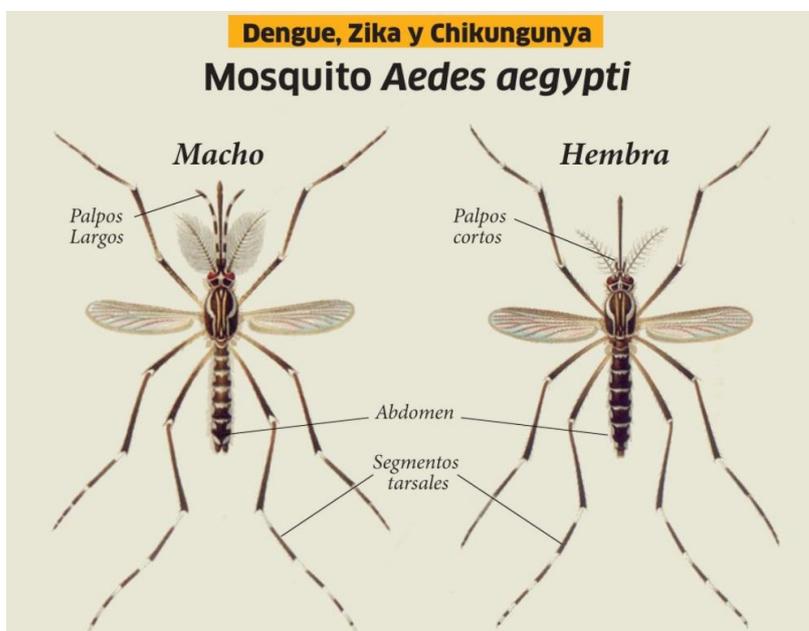


Figura 1.4: Dimorfismo sexual de mosquito *Aedes aegypti*. Fuente (Mundo Sano, 2017)

Se ha demostrado que los machos y las hembras buscan preferentemente sitios cercanos a poblaciones humanas (fuente de alimento) para realizar su ritual de apareamiento, de acuerdo a los estudios presentados por Downes (1969). Estudios de campo realizados por la Unidad de Investigación del *Aedes* de África, demostraron que una gran cantidad de machos *Aedes* fueron capturados y observados cerca de poblaciones humanas (Hartberg, 1971). Los mosquitos *Aedes* pueden llegar a formar enjambres de 12 a 30 individuos, compuestos mayormente de machos. La reproducción

en la familia Díptera, ocurre principalmente en el aire; el macho se acerca por detrás de la hembra y realiza una rotación de 180° con el fin de posicionarse de forma ventral con la hembra (Cator L. J., Arthur, Ponlawat, & Harrington, 2011).

1.4.3 Bioacústica

La bioacústica se define como una ciencia multidisciplinaria que integra de biología y el sonido. Integra la producción de sonido, su dispersión por un medio determinado y su recepción en animales (Ibáñez & Núñez, 2016). Las señales bioacústicas tienden a ser representativas de los individuos de una misma especie y/o población (Ibáñez & Núñez, 2016). Las señales acústicas emitidas por grupos taxonómicos tales como: insectos, anfibios, aves, insectos, mamíferos y peces, permiten la diferenciación entre especies, debido a que poseen características sonoras, permitiéndoles el reconocimiento entre individuos de la misma especie y entre individuos de otras especies (Caycedo-Rosales, Ruiz-Muñoz, & Orozco-Alzate, 2013). Las señales bioacústicas son ampliamente usadas en contextos territoriales, de defensa frente a depredadores y sexuales, reproductivos, que implican comportamientos complejos tales como la atracción del sexo opuesto y selección sexual. Estos procesos comportamentales juegan un rol indispensable en la evolución, y patrones de distribución de las especies (Caycedo-Rosales, Ruiz-Muñoz, & Orozco-Alzate, 2013). Es por esta razón que los registros de sonidos producidos por los animales con usos en el campo de la investigación.

Las vocalizaciones y cantos emitidos por aves son las señales acústicas más estudiadas, ya que mediante el análisis de las mismas, es posible obtener información en tiempo y espacio que permite comparar los sonidos de individuos, poblaciones y especies (Ibáñez & Núñez, 2016). Por otro lado, la bioacústica ha sido poco estudiada en insectos. Los insectos procesan el sonido de las frecuencias para varios fines: identificar al sexo opuesto, estimar la distancia entre un competidor potencial y para detectar depredadores y presas (Pollack & Imaizumi, 1999). Se ha demostrado mediante investigaciones bioacústicas en campo que las mariposas nocturnas (*Arctiidae*, *Noctuidae*), son capaces de receptar señales ecolocalizadoras de ultrasonidos (alta frecuencia) que los murciélagos insectívoros emiten y como respuesta son capaces de emitirlos. El mecanismo de acción de las mariposas consiste en la parálisis de las alas, debido al reconocimiento de las frecuencias emitidas por el murciélago y se produce una mezcla

de señales acústicas de los insectos con la del murciélago, disminuyendo significativamente la capacidad de ecolocalización del depredador. De esta manera, el insecto presa cae al suelo y logra escapar de sus depredadores (Nájera & Brenes, 1986).

En el caso particular del orden Díptera, las hembras emiten sonidos que se encuentran dentro del rango audible de los humanos. Mientras que los machos son atraídos específicamente por la frecuencia del aleteo que las hembras producen, permitiendo la elaboración de trampas acústicas para mosquitos en 1949 (Nájera & Brenes, 1986). La bioacústica permite conocer los complejos medios por los cuales los animales son capaces de comunicarse ya sea por vocalizaciones, movimientos de sus alas (aleteo) o por fricción con alguna parte de su cuerpo con otra (estrídulación), estos procesos son importantes para el estudio de la ecología y biología de individuos, poblaciones y ecosistemas.

1.4.4 Bioacústica en mosquitos

El factor indispensable para que ocurra el acercamiento y la reproducción en los mosquitos, es el sonido captado por el órgano de Johnson (Belton, 1974). Este órgano funciona como un estímulo que provoca una respuesta eléctrica en el individuo y ésta proporciona la información necesaria sobre la localización e identificación de la hembra de la misma o de otra especie. El estudio de Belton (1974), señala que la atracción de machos por los tonos de vuelo de las hembras se registra en 27 especies diferentes de mosquitos en Norteamérica y en el Oeste de la India. Del mismo modo, Robert, muestra en su estudio sobre las frecuencias del aleteo de machos y hembras de mosquitos que ambos sexos son capaces de emitir, receptar y reconocer ciertas frecuencias para que se inicie la reproducción (Robert, 2009). El órgano de Johnson se encuentra estrechamente relacionado con la antena de los mosquitos, ya que a través de esta estructura, las frecuencias de las vibraciones son captadas. El movimiento de los flagelos estimulan las respuestas eléctricas de acuerdo a la dirección en la que el sonido es captado, permitiéndole al individuo reconocer el lugar de procedencia del sonido. Por su parte, Keppler (1958), menciona que si se genera la pérdida de uno o más flagelos de la antena, se producirá una distorsión de la dirección del sonido reduciendo simultáneamente la frecuencia de resonancia (Belton, 1974).

El funcionamiento de las antenas de estos individuos muestra propiedades mecánicas complejas, permitiéndole al macho filtrar las frecuencias emitidas por la hembra y dejar en segundo plano sus propias frecuencias. Las antenas de los machos y de las hembras se diferencian en la cantidad de flagelos presentes en esta estructura. Clements (1963), mencionó que la antena del macho posee una sensibilidad a los sonidos del aire, similar a la del oído humano. En contraste a la antena de la hembra, que es menos sensitiva. Esta diferencia se debe a que el flagelo sin una cobertura, posee una menor resistencia mecánica para la recepción de las ondas sonoras (Belton, 1974). Morfológicamente, la antena de la hembra está compuesta por un menor número de setas flagelares y no especializadas (Downes, 1969). La distancia en la que se encuentra el individuo de la fuente emisora del sonido, juega un rol indispensable en la recepción del mismo. En caso de que los individuos no se encuentran en un cierto rango de distancia, las frecuencias del aleteo no serán escuchadas ni identificadas. Por ende no se generará una respuesta para iniciar el ritual de apareamiento.

Se han registrado las frecuencias del aleteo de los machos y hembras de *Ae. aegypti*, en laboratorio y en campo. Según Belton (1974), las frecuencias emitidas por la hembra son de 500Hz a una temperatura de 20°C. Mientras que, las frecuencias del macho reportadas por Wishart et al. (1962) y Tischner y Schief (1955), son 320 y 350Hz respectivamente. Por otro lado, las frecuencias registradas en laboratorio para machos es en promedio 715Hz (Brogdon, 1994) y para las hembras varía en un rango promedio de 484Hz (Brogdon, 1994 y Moore et al., 1986) a 560Hz (Cator et al., 2011) (Johnson & Ritchie, 2015). Sin embargo, estudios en campo revelan que las frecuencias del aleteo de una pareja de mosquitos en enjambre eran de 1010.9Hz. Además, se registró que en enjambre las parejas de mosquitos alcanzan una convergencia de frecuencias durante el ritual de apareamiento. Estas diferencias en las frecuencias del aleteo se presentan debido a la variación en ciertas variables ambientales, tales como la temperatura, en la que las frecuencias se ven alteradas por un aumento de esta (Cator L. J., Arthur, Ponlawat, & Harrington, 2011).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

Entre los diversos estudios realizados en la bioacústica del *Ae. aegypti* se identificaron frecuencias distintas, dependiendo de la actividad o las circunstancias en las que se realizó el estudio de los insectos. Individualmente para especímenes criados en laboratorio y con condiciones ambientales controladas, Brogdon (1994), utiliza un tubo de vidrio de 300x15 mm para realizar las grabaciones, en el cual se coloca un micrófono comercial (Radio Shack model 33-1060) en un extremo y en el otro un filamento de látex para evitar su escape, y a su vez realiza grabaciones de individuos en vuelo libre, siguiéndolos con el micrófono mientras se desplazan horizontalmente. Sin embargo, para grabaciones en casas en las que se encuentran enjambres de mosquitos en su medio natural Cator et al. (2011), utilizó un sistema de embudo de 15 cm de ancho, con la implementación de dos micrófonos sensibles (Knowles EK-23132, Itasca, IL) en el perímetro del embudo y atado por el otro extremo a un palo de madera de 1 m de longitud, este sistema se coloca debajo del enjambre mientras que los individuos se encuentran en vuelo libre dentro de las casas.

Para realizar el presente estudio de la bioacústica y análisis de las frecuencias de aleteo de machos y hembras de *Ae. aegypti*, se contó con la colaboración e instalaciones del insectario del CRNV, perteneciente al INSPI de la ciudad de Quito.

2.1 Muestras

Los mosquitos usados para este estudio fueron provistos por el insectario del CRNV, las colonias se encontraban en jaulas de cría en una habitación con condiciones ambientales controladas, con una temperatura promedio de 23°C y humedad relativa promedio del aire del 54%, se usaron individuos de *Ae. aegypti* pertenecientes a la F1, con una edad media de 30 días, de diferentes localidades del Ecuador. Se eligieron dos zonas: Babahoyo-Los Ríos y Quinindé-Esmeraldas, las cuales

contaban con una densidad poblacional de 200 a 300 individuos del cual se obtuvo una muestra aleatoria de 17 machos y 17 hembras de Babahoyo y 18 machos y 18 hembras de Quinindé.

2.2 Software y equipos

Se utilizó un micrófono unidireccional conectado a una consola Numark profesional y una laptop HP 1000. Se utilizó el software Adobe Audition CC 2018 para realizar las grabaciones y Raven Pro 1.5 para el análisis de las frecuencias detectadas, para realizar el estudio estadístico se utilizó el programa de software libre R con el editor R-Studio.

2.3 Experimentación

Se realizó las grabaciones individuales de cada individuo, mediante la metodología usada en Brogdon (1994), del cual se modificó el uso de un tubo de vidrio de 300 x 15 mm, por una probeta de cristal de 250 ml, el cual se recubrió en su interior con algodón.

Se aislaron los individuos por sexo y localidad en tubos falcón, mediante el uso de tubos de extracción de insectos, de los cuales se procedió a extraer uno a uno para colocarlos en el interior de la probeta. Para evitar el escape de los individuos al exterior este procedimiento se realizó en una cabina de flujo laminar, y se recubrió la boca de la probeta con una malla. El micrófono se colocó de forma vertical y la probeta de forma invertida con la boca apuntando hacia el micrófono, con una distancia no mayor a 2 cm. Las grabaciones duraron un minuto por individuo, debido a que los mosquitos no se encontraban en vuelo constante se procedió a realizar 10 agitaciones de la probeta entre intervalos de 5 y 7 segundos aproximadamente, durante el tiempo que duró la grabación.

2.4 Análisis de las frecuencias

En total se grabó el vuelo de 70 individuos, lo que dio un total de 70 minutos aproximadamente de grabaciones, estas grabaciones fueron analizadas mediante el programa Raven Pro 1.5. Se obtuvieron las frecuencias en espectrogramas de las

cuales se eliminó el ruido de fondo y ruidos externos que registró el micrófono. Se procedió a realizar el aislamiento de la frecuencia que correspondían al vuelo de *Ae. aegypti*. Para el respectivo análisis de las frecuencias se seleccionó la frecuencia con más predominancia en el espectrograma y se eligió de esta el mínimo armónico para realizar las comparaciones y análisis estadísticos.

2.5 Análisis estadísticos

Se utilizó el programa de software libre R junto con su editor R-Studio, para realizar los análisis estadísticos. Se realizó una normalización de los datos con $\log_{(10)}$, y se realizaron pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk en los datos de ambas localidades; Babahoyo ($W = 0.84935$, $p < 0.05$) y Esmeraldas ($W = 0.93525$, $p < 0.05$). Las pruebas mostraron que los datos correspondían a una distribución no paramétrica. Así pues, se realizaron pruebas estadísticas (Wilcoxon test) entre sexos de cada localidad y entre localidades comparando machos y hembras.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Frecuencias individuales

Se obtuvieron 34 frecuencias de las grabaciones individuales de la localidad de Babahoyo de machos y hembras de *Ae. aegypti*. Para el respectivo análisis de las frecuencias se seleccionó la frecuencia más baja a partir del espectrograma (frecuencia (kHz) Vs. tiempo (s)) (ver figura 3.1). Del mismo modo se analizaron las 36 frecuencias obtenidas de las grabaciones individuales de machos y hembras de la localidad de Quinindé (ver figura 3.1).

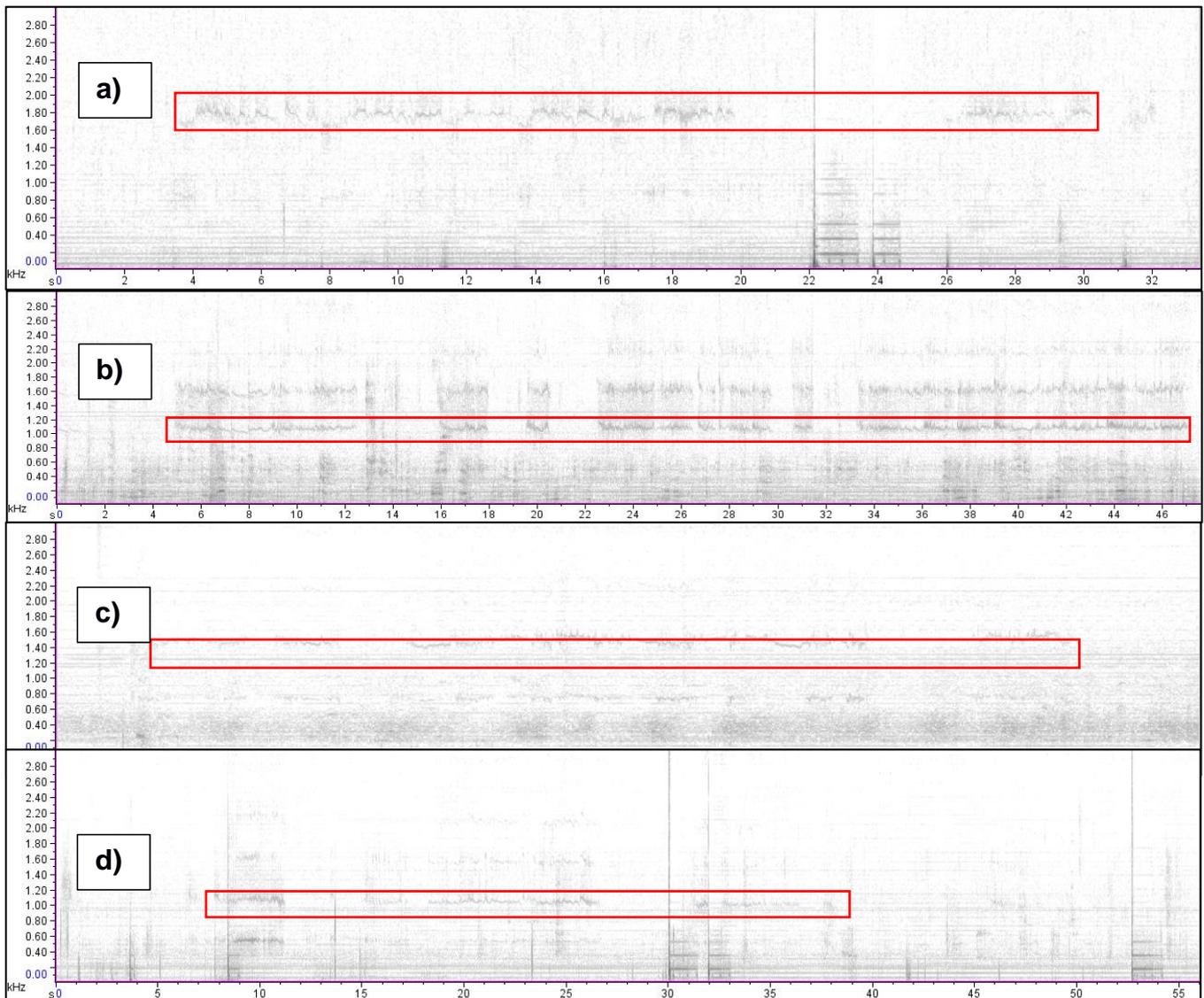


Figura 3.1: Espectrogramas Frecuencias (kHz) V. Tiempo (s) de grabaciones individuales de *Aedes aegypti*. a) Macho de Babahoyo. b) Hembra de Babahoyo. c) Macho de Quinindé. d) Hembra de Quinindé. El recuadro rojo muestra la frecuencia seleccionada para el análisis de las frecuencias correspondientes

3.2 Frecuencias por localidad

Las frecuencias de machos *Ae. aegypti* de la localidad de Babahoyo se encontraron en un rango de 1345.2 – 1631.0 Hz. Mientras que las frecuencias de las hembras para la misma localidad se encontraron en un rango de 833.3– 1107.1 Hz. Los promedios de las frecuencias de hembras y machos de la localidad de Babahoyo fueron de 969.9 y 1463.1 Hz respectivamente. Estos datos muestran que las frecuencias de los machos son mayores en relación con los de las hembras de Babahoyo y que presentan diferencias significativas entre sexos (Wilcoxon ($w = 0$, $p\text{-value} < 0.05$)) (ver figura 3.2). Por otro lado, para la provincia de Quinindé, las frecuencias obtenidas se encontraron en un rango de 440.5 – 1452.4 Hz para el caso de los machos *Ae. aegypti*. Mientras que las hembras presentaron un rango de frecuencias de 488.1 – 1750.0 Hz. Los promedios de las frecuencias de hembras y machos de Quinindé fueron de 893.8 y 1000.3 Hz respectivamente. Las frecuencias de los individuos machos y hembras de Quinindé no mostraron diferencias significativas entre sexos (Wilcoxon ($w = 127$, $p\text{-value} > 0.05$)) (ver figura 3.3)

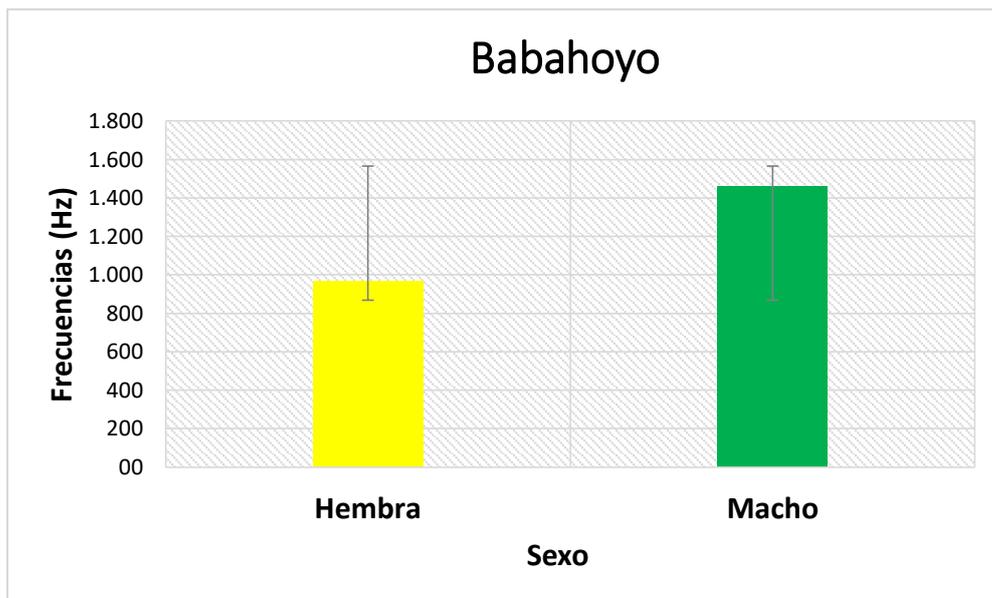


Figura 3.2: Frecuencias de hembras y machos *Aedes aegypti* de la localidad de Los Ríos – Babahoyo.

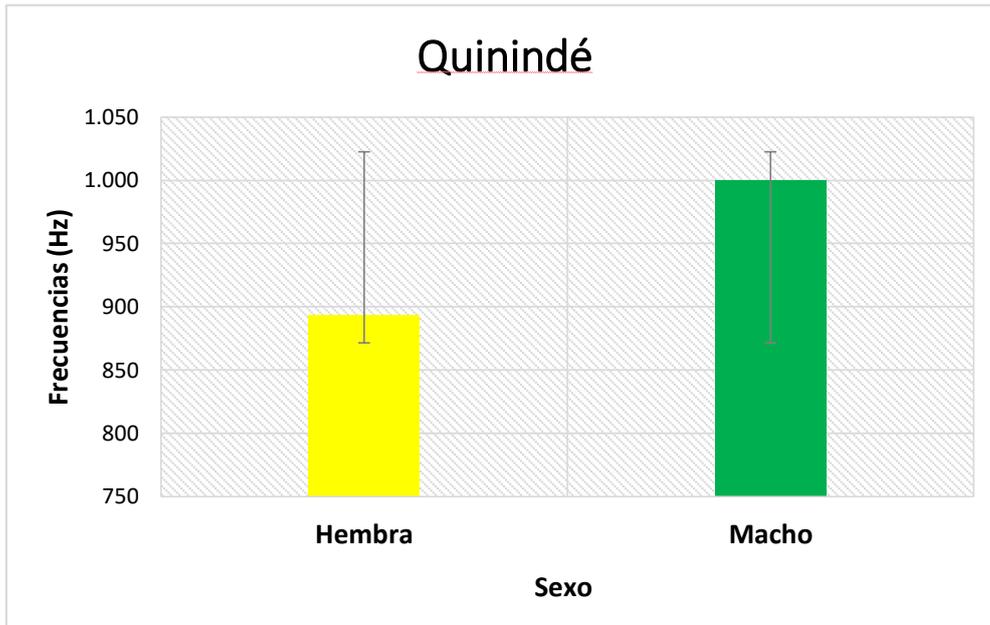


Figura 3.3: Frecuencias de hembras y machos *Aedes aegypti* de la localidad de Esmeraldas – Quinindé.

3.3 Frecuencias entre localidades

Las frecuencias de los machos de ambas localidades (Babahoyo y Quinindé) mostraron diferencias significativas (Wilcoxon ($w = 300$. $p\text{-value} < 0.05$) en las frecuencias del aleteo. Mientras que entre las hembras de las dos localidades no se presentaron diferencias significativas (Wilcoxon ($w = 170$. $p\text{-value} > 0.05$)) (ver figura 3.4).

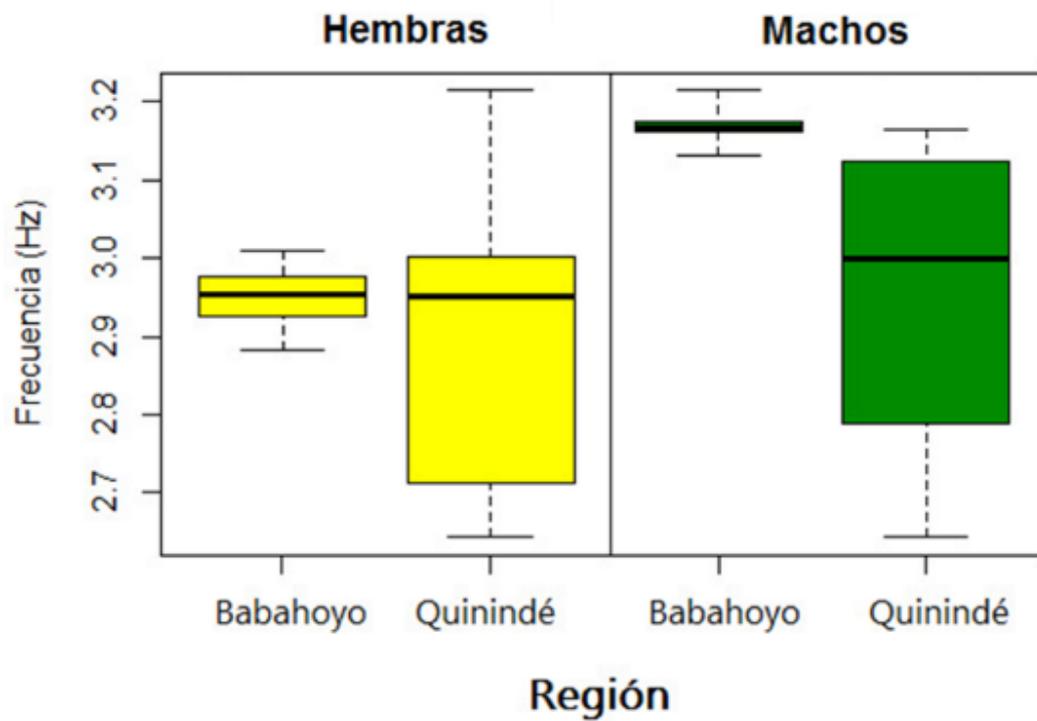


Figura 3.4: Gráfico de caja de bigotes muestra la distribución de las medianas de las frecuencias de machos y hembras de las localidades de Babahoyo y Quinindé.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las frecuencias registradas en el presente estudio muestran diferencias con aquellas registradas por el estudio de Johnson et. al (2015), llevado a cabo en Australia, las cuales muestran ser mayores en el presente estudio. Las diferencias de frecuencias del aleteo de los individuos están condicionadas por factores ambientales tales como la temperatura. Cator et. al (2011), en su estudio realizado en Tailandia afirma que las frecuencias del aleteo varían de acuerdo al ambiente. Las frecuencias registradas por Cator et. al (2011), en campo difirieron de aquellas registradas en laboratorio. Esto se debe a que las frecuencias del aleteo de los individuos del orden Diptera poseen una relación directamente proporcional con la temperatura, es decir, a medida que aumenta la temperatura, las frecuencias del aleteo también aumentan.

Las diferencias encontradas en las frecuencias entre sexos en la localidad de Babahoyo estarían sujetas aparentemente por diferencias morfológicas de los individuos machos y hembras. Del mismo modo sucede con las diferencias de frecuencias encontradas entre machos de las localidades de Babahoyo y Quinindé. En un estudio realizado por Sánchez & Liria (2017), en Venezuela, mostraron que el dimorfismo sexual de los individuos de *Ae. aegypti* se basa en la morfometría geométrica, la cual proporciona análisis robustos para la cuantificación e identificación visual de la variación geométrica de una determinada estructura biológica. En su estudio destacan la importancia y la utilidad de la geometría alar para describir el dimorfismo sexual en artrópodos de importancia médica. Los análisis con respecto al tamaño isométrico y la conformación alar mostraron tener diferencias significativas entre machos y hembras. De esta manera, Sánchez & Liria (2017) mostraron que las diferencias asociadas al tamaño isométrico de la estructura alar corresponden a hembras de mayor proporción corporal en comparación con los machos, lo cual también se da en individuos de otras especies (*Cx quinquefasciatus* y *Ae. albopictus*).

Sánchez & Liria, (2017), señalan que hay una relación directamente proporcional entre el tamaño de las hembras y la frecuencia de ingesta sanguínea en *Ae. aegypti*. Mientras que otros estudios demuestran una relación existente entre el tamaño corporal de las hembras y la longevidad, supervivencia y susceptibilidad a la infección por patógenos (Sánchez & Liria, 2017). Del mismo modo, otros estudios sobre *Ae. albopictus* y *Ae. gemiculatus*, mostraron una relación entre el incremento de la fecundidad y la longitud alar de las hembras (Nasci, 1986).

Por otro lado, aspectos genéticos también se ven involucrados en la diferencia de las frecuencias entre individuos machos y hembras de una misma localidad para el caso de Babahoyo. Esto se debe aparentemente a la impronta genética. Existen genes que se encuentran marcados y se expresan de forma distinta dependiendo del progenitor, es decir, aquellos heredados por la fuente materna serán diferentes de aquellos que han sido heredados de la fuente paterna (Gordon, 1999). En otras palabras, la expresión de un determinado alelo depende directamente de su origen parental. Esta premisa científica se relaciona con el presente estudio, debido a que los organismos parentales fueron capturados en su estado silvestre. Sin embargo, los organismos con los que se trabajó fueron la F1, los cuales se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura (23° C) y humedad relativa (54%) y aun así presentaron diferencias en las frecuencias entre sexos de la misma localidad, descartando la posibilidad de la acción de factores ambientales sobre estas variaciones en las frecuencias.

Los resultados obtenidos del estudio presentado, sirven de información de referencia para la realización de futuras investigaciones para la elaboración de estrategias para el control de la abundancia poblacional y erradicación de vectores transmisores de enfermedades en Ecuador. Estudios sobre la biología del mosquito *Ae. aegypti* no se han llevado a cabo hasta ahora en el país. Cabe recalcar que estudios sobre la ecología y biología de los organismos vectores son de gran importancia para la comprensión de las dinámicas poblaciones de estos individuos. De esta manera se agilitan estudios investigativos direccionados a la vigilancia de arbovirus en el país.

4.1 Conclusiones

- Se identificaron las frecuencias de hembras y machos de *Ae. aegypti* de Babahoyo y Quinindé (F1 criada en cautiverio).
- Las variaciones en las frecuencias podrían estar dadas aparentemente por aspectos morfológicos e impronta genética.
- Nuestra propuesta muestra la opción de la aplicación de éste diseño bioacústico a este tipo de trampas (CDC).
- La versatilidad del diseño se muestra la posibilidad de ajustar las frecuencias acústicas de los individuos *Ae. aegypti* a las distintas localidades. De esta manera, se estaría redireccionando y aumentando la captura de hembras *Ae. aegypti* potencialmente infectadas con el virus (dengue, zika y/o chikungunya).

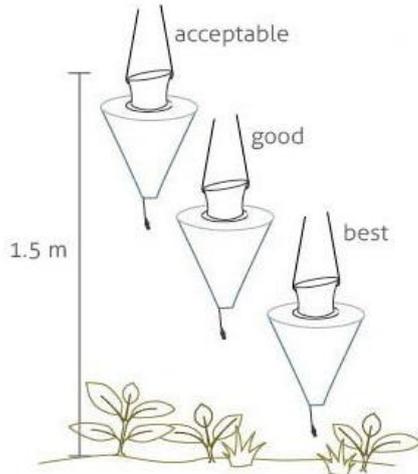
4.2 Recomendaciones

Con el fin de empezar a nutrir una línea base de información con respecto a la biología y ecología del *Ae. aegypti* en el Ecuador y en la región se recomienda:

- Expandir la cantidad de localidades y de individuos estudiados con el fin de corroborar si los resultados encontrados contarían con características similares a los presentados en este estudio.
- Es indispensable realizar la fase experimental tanto en laboratorio como en campo sobre la reacción de los individuos ante la exposición de las frecuencias aisladas e identificadas tanto de machos como de hembras.
- La futura implementación del diseño bioacústico en trampas para usos externos en investigación representaría una alternativa a las trampas actualmente existentes y ayudaría al estudio de insectos vectores de enfermedades con importancia médica.

ANEXOS

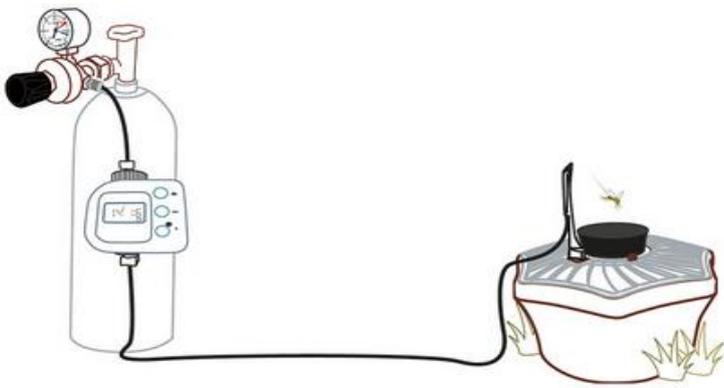
ANEXO A



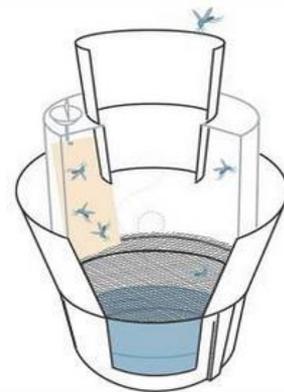
Trampas colgantes
Fuente: biogents.com



BG-Sentinel
Fuente: biogents.com



BG – mosquitaire CO₂
Fuente: biogents.com



BG-GAT
Fuente: biogents.com



Trampas de luz tipo CDC
Fuente: entomopraxis.com

BIBLIOGRAFÍA

- Achee, N. L., Youngblood, L., Bangs, M. J., Lavery, J. V., & James, S. (2015). Considerations for the Use of Human participants in vector biology research a tool for investigators and regulator. *VECTOR-BORNE AND ZOOLOGICAL DISEASES*.
- Baker, M. K. (12 de 02 de 2013). *Boing Boing*. Obtenido de <https://boingboing.net/2013/02/01/how-to-tell-whether-a-mosquito.html#>
- Barrera, R. (09 de 2015). Editorial: Control de los mosquitos vectores del dengue y del chikunguña: ¿es necesario reexaminar las estrategias actuales? *Biomedica*, 297-299. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4764089/>
- Belton, P. (1974). AN ANALYSIS OF DIRECTION FINDING IN MALE MOSQUITOES. *Experimental Analysis of Insect Behaviour*, 139-148.
- Benelli, G. (2015). Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitol Res*, 2801-2805.
- Beserra, E. B., Freitas, E. d., Souza, J. T., Fernandes, C. R., & Santos, K. D. (2009). Ciclo de vida de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera, Culicidae) em águas com diferentes características. *Iheringia, Sér Zool, Porto Alegre*, 281-285.
- Biogents. (2018). *BG-Sentinel mosquito trap*. Regensburg.
- Biogents. (2018). *Mosquito trap BG GAT*. Regensburg .
- Brogdon, W. G. (1994). Measurement of Flight Tone Differences Between Female *Aedes aegypti* and *A. albopictus* (Diptera: Culicidae). *Entomological Society of America*.
- Canyon, D. V., & Hii, J. L. (1997). Efficacy of carbon dioxide, 1-octen-3-ol. And lactic acid in modified fay-prince traps as compared to man-landing catch of *aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 66-70.

- Cator, L. J., Arthur, B. J., Harrington, L. C., & Hoy, R. R. (2009). Harmonic Convergence in the Love Songs of the Dengue Vector Mosquito. *Science*, 1077-1079.
- Cator, L. J., Arthur, B. J., Ponlawat, A., & Harrington, L. (07 de 2011). Behavioral Observations and Sound Recordings of Free-Flight Mating Swarms of *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand. *J Med Entomol*, 941-946. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4948640/pdf/nihms680971.pdf>
- Cator, L. J., Arthur, B. J., Ponlawat, A., & Harrington, L. C. (2011). Behavioral Observations and Sound Recordings of Free-Flight Mating Swarms of *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand. *J Med Entomol* , 941-946.
- Caycedo-Rosales, P. C., Ruiz-Muñoz, J. F., & Orozco-Alzate, M. (2013). Reconocimiento automatizado de señales bioacústicas: Una revisión de métodos y aplicaciones. *Ingeniería y Ciencia*, 171-195.
- CDC. (2015). Hoja de datos sobre el dengue. *Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades*.
- Cevallos, V., Ponce, P., Waggoner, J. J., Pinsky, B. A., Coloma, J., Quiroga, C., . . . Cárdenas, M. J. (2018). Zika and Chikungunya virus detection in naturally infected *Aedes aegypti* in Ecuador. *Acta Tropica*, 74-80.
- Contracostamosquito. (2012). *Contra Costa Mosquito and Vector Control District*. Obtenido de https://www.contracostamosquito.com/c02_trap_article.htm
- Cruz, D. R. (12 de 2002). *Scielo*. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602002000300004
- Cruz, R. R. (2002). Estrategias para el control del dengue y del *Aedes aegypti* en las Américas. *Rev Cubana Med Trop*, 189-201. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602002000300004
- Dejenie, T., Yohannes, M., & Assmelash, T. (2011). CHARACTERIZATION OF MOSQUITO BREEDING SITES IN AND IN THE VICINITY OF TIGRAY MICRODAMS. *Ethiop J Health Sci*, 57-66.

- Deposiphotos. (2009). *Deposiphotos*. Obtenido de <https://mx.depositphotos.com/97525838/stock-illustration-nature-aedes-aegypti-mosquito-stilt.html>
- Downes, J. A. (1969). THE SWARMING AND MATING FLIGHT OF DIPTERA. *Annu. Rev. Entomol.*, 271-298.
- Fernandez, M. d. (2008). *ASPECTOS BIOECOLOGICOS DE IMPORTANCIA PARA EL CONTROL DE Aedes aegypti Y OTROS CULICIDOS EN EL ECOSISTEMA URBANO*. Habana, México: Universitaria.
- Fondo de las Naciones Unidas para la infancia (UNICEF). (2016). *Control del vector Aedes aegypti y medidas preventivas en el contexto del Zika. Nota técnica para UNICEF*. 05.
- Freitas, R. M., Eiras, Á. E., & Oliveira, R. L. (2006). Field evaluation of effectiveness of the BG-Sentinel, a new trap for capturing adult *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 321-325. Obtenido de http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762006000300017&script=sci_arttext&tIng=es
- Fundación IO. (12 de 2017). *Viajar seguro*. Obtenido de <http://fundacionio.org/viajar/enfermedades/vectores.html>
- Gordon, E. D. (1999). Impronta genómica. *Archivo Médico de Camaguey*.
- Hartberg, W. K. (06 de 1971). Observations on the Mating Behaviour of *Aedes aegypti* in Nature. *Bull World Health Organ* , 848-850. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-3032.1979.tb00185.x>
- Ibáñez, K. M., & Núñez, R. C. (2016). La bioacústica como una herramienta para el estudio de las vocalizaciones y conservación de las aves del municipio de Chilpancingo, en el estado de Guerrero. *Tlamati Sabiduría* .
- INSPI. (2014). *Modelación de la Distribución Espacial de Aedes aegypti en Ecuador Continental para apoyar en la prevención del Dengue y del Chikungunya*. Quito.
- INSPI. (2018). *INSPI - Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública*. Obtenido de CIREV - Centro de Investigación y Referencia de Vectores.: <http://www.investigacionsalud.gob.ec/webs/cirev/proyectos/>

- Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI). (2013). *Modelación de la Distribución Espacial de Aedes aegypti en Ecuador Continental para apoyar en la prevención del Dengue y del Chikungunya*. Guayaquil.
- Irish, S. R., Chandre, F., & N'Guessan, R. (2008). Comparison of Octenol- And BG Lure Sentinel Traps and an Encephalitis Virus Surveillance Trap in Portland, OR-Baited Biogents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 393-397.
- Johnson, B. J., & Ritchie, S. A. (26 de 10 de 2015). The Siren's Song: Exploitation of Female Flight Tones to Passively Capture Male Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 245-248. Obtenido de <https://academic.oup.com/jme/article-abstract/53/1/245/2459695?redirectedFrom=fulltext>
- Johnson, B. J., & Ritchie, S. A. (2016). The Siren's Song: Exploitation of Female Flight Tones to Passively Capture Male Aedes aegypti (Diptera, Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 245-248.
- Kröckel, U., Rose, A., Eiras, Á. E., & Geier, M. (2006). New tools for surveillance of adult yellow fever mosquitoes: comparison of trap catches with human landing rates in an urban environment. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 229-238.
- Lima, E. P., Paiva, M. S., Araújo, A. P., Silva, É. d., Silva, U. d., Oliveira, L. d., . . . Santos, M. A. (12 de 01 de 2011). Insecticide resistance in Aedes aegypti populations from Ceará, Brazil. *Parasites & Vectors*. Obtenido de <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-4-5>
- Lissardy, G. (30 de 07 de 2015). *BBC Mundo, Brasil*. Obtenido de BBC Mundo, Brasil: https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/07/150723_brasil_mosquitos_transgenicos_contra_dengue_gl
- Maguiña, C., & Rodas, E. G. (27 de 04 de 2016). El virus Zika: una revisión de literatura. *Acta Médica Peruana (AMP)*, 35-41. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1728-59172016000100007&script=sci_arttext

- Manrique-Saide, P., Delfin-González, H., Parra-Tabla, V., & Ibáñez-Bernal, S. (1998). Desarrollo, mortalidad y sobrevivencia de las etapas inmaduras de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) en neumáticos. *Biomed*, 84-91.
- MSP. (21 de 04 de 2015). *Salud*. Obtenido de https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=1339:se-presenta-caso-importado-de-chikungunya-en-ecuador&Itemid=360
- MSP. (2018). *Casos confirmados de Dengue sin signos de alarma (DSSA), Dengue con signos de alarma (DCSA) y Dengue grave (DG), por provincias. Ecuador SE 23/2018*. MSP.
- Mundo Sano. (2017). *Mundo Sano*. Obtenido de <https://twitter.com/i/moments/890131300623024128>
- Nájera, J. M., & Brenes, B. M. (1986). Emisión de sonido en insectos: un enfoque evolutivo (PRIMERA PARTE). *Biocenosis*.
- Newhouse, V. F., Chamberlain, R. W., Johnston, J. G., & Sudia, W. D. (1966). Use of dry ice to increase mosquito catches of the CDC miniature light trap. *Mosquito News*, 30-35.
- OMS. (2014). *Who*. Obtenido de <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2014/vector-borne-diseases/es/>
- OMS. (12 de 04 de 2017). *Who*. Obtenido de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>
- OPS. (2017). *Zika - Actualización Epidemiológica*.
- OPS. (2018). *Reported Cases of Dengue Fever in America*. Obtenido de <http://www.paho.org/data/index.php/en/mnu-topics/indicadores-dengue-en/dengue-nacional-en/252-dengue-pais-ano-en.html?showall=&limitstart=>
- Organización Mundial de la Salud. (02 de 02 de 2018). *Who*. Obtenido de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- Organización Panamericana de la Salud. (29 de 12 de 2016). *Paho*. Obtenido de https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12861%3A2016-zika-evolved-from-emergency-into-long-term-public-health-challenge&catid=740%3Apress-releases&Itemid=1926&lang=es

- Pan American Health Organization. (2017). *Number of Reported Cases of Chikungunya Fever in the Americas, by Country or Territory*.
- Pollack, G. S., & Imaizumi, K. (1999). Neural analysis of sound frequency in insects. *BioEssays*, 295-303.
- Ponce, P., Morales, D., Argoti, A., & Cevallos, V. E. (2017). First Report of *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae), the Asian Tiger Mosquito, in Ecuador. *Journal of Medical Entomology*, 1-2.
- Rentokil. (2018). *Rentokil*. Obtenido de <https://www.rentokil.es/enfermedades-transmitidas-por-vectores/>
- Robert, D. (09 de 06 de 2009). Insect Bioacoustics: Mosquitoes Make an Effort to Listen to Each Other. *Current Biology*, R446-R449. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982209009816>
- Salazar, N., Fernández, W., Iannacone, J., Morales, A., & Espinoza, M. (2006). Comparación de dos métodos de colecta para Anophelinos (Cebo humano y trampa de luz CDC), durante la época seca y lluviosa, Yurimaguas, Perú 2005. *Scielo*.
- Sánchez, E., & Liria, J. (2017). DIMORFISMO SEXUAL ALAR EN *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (DIPTERA: CULICIDAE) DE VENEZUELA. *Acta Biol. Venez.*, 163-170.
- SC Johnson. (2017). *SC Johnson*. Obtenido de http://www.scjohnson.com/en/commitment/socialresponsibility/mosquitoes_expert_aedes_aegypti_ES.aspx
- Sriwichai, P., Karl, S., Samung, Y., Sumruayphol, S., K. K., Payakkapol, A., . . . Sattabongkot, J. (2015). Evaluation of CDC light traps for mosquito surveillance in a malaria endemic area on the Thai-Myanmar border. *Parasites & Vectors*, 1-10.
- Subsecretaria Nacional de Vigilancia de la Salud Pública. (2017). *ENFERMEDADESTRANSMITIDASPORVECTORES FIEBRECHIKUNGUNYA*.
- Subsecretaria Nacional de Vigilancia de la Salud Pública. (2018). *Casos de ZIKA, por provincias SE1 - 52 /2016 -SE 01-52-2017*.
- Subsecretaría Nacional de Vigilancia de la Salud Pública. (14 de 03 de 2018). *Zika, semana epidemiológica 10-2018, Ecuador*. Obtenido de

<https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2015/12/GACETA-ZIKA-SE10.pdf>

- Universidad San Francisco. (2016). Aedes Aegypti Enemigo en la mira, el mosquito africano que asecha América. *Enfoque*, 2-4.
- Valdés, M. Á. (2016). Fiebre por virus Zika: una alerta necesaria. *Habanera de Ciencias Médicas*, 1-3.
- Velázquez, G. V., Vargas, F. A., Nava, M. L., Bataz, E. R., Sánchez, C. A., & Arriaga, J. S. (2016). DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LARVAS DE Aedes aegypti (DIPTERA: CULICIDAE) Y RIESGO DE TRANSMISIÓN DE DENGUE, CHIKUNGUNYA Y ZIKA EN TECOANAPA, GUERRERO. *Entomología Médica y Forense*, 722-728.
- Watts, D. M., Burke, D. S., Harrison, B. A., Whitmire, R. E., & Nisalak, A. (1986). Effect of Temperature on the Vector Efficiency of Aedes aegypti for Dengue 2 Virus. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*.