

Diversidad de culícidos y análisis molecular de arbovirus en larvas de *Aedes* spp. de Costa Rica

Sonia Flores-Núñez¹ , Edwin Beltré-Núñez¹ , Silvia Argüello-Vargas¹ , Ana Jiménez-Rocha²  & Gaby Dolz^{1,3} 

1. Universidad Nacional de Costa Rica, Maestría en Enfermedades Tropicales, Posgrado Regional en Ciencias Veterinarias Tropicales, Escuela de Medicina Veterinaria, Heredia, Costa Rica; soniaflores1988@gmail.com; edw.master2@gmail.com; silvia.arguello.vargas@una.ac.cr
2. Universidad Nacional de Costa Rica, Laboratorio de Parasitología, Escuela de Medicina Veterinaria, Heredia, Costa Rica; ana.jimenez.rocha@una.ac.cr
3. Universidad Nacional de Costa Rica, Laboratorio de Zoonosis y Entomología, Programa de Investigación en Medicina Poblacional, Escuela de Medicina Veterinaria, Heredia, Costa Rica; gaby.dolz.wiedner@una.ac.cr

Recibido 31-VII-2025 • Corregido 11-IX-2025 • Aceptado 02-X-2025

DOI: <https://doi.org/10.22458/urj.v17i1.5981>

ABSTRACT. “Diversity of culicids and molecular analysis of arboviruses in *Aedes* spp. larvae from Costa Rica”.

Introduction: Understanding mosquito diversity, monitoring new species, and recognizing the role of vertical transmission are crucial to effective vector-borne disease management. **Objective:** To estimate culicid diversity and detect dengue, chikungunya, and Zika viruses in *Aedes* spp. larvae across 19 districts in Costa Rica. **Methods:** From August through November 2021, we collected 5 036 mosquito larvae in 26 localities, identified them taxonomically, analyzed them for diversity indices, and used real-time Polymerase Chain Reaction to detect viral RNA in *Aedes* spp. larvae. **Results:** We identified eight species of Culicidae, with *Aedes aegypti* being the most abundant (63.3%), followed by *Aedes albopictus* (13.9%), which is reported for the first time for Punta Morales. None of the 97 larval pools tested positive for dengue, chikungunya, or Zika. **Conclusion:** The larval composition exhibited low ecological diversity and no viral infection, indicating limited vertical transmission during the study period, while underscoring the need for sustained entomological surveillance.

Keywords: mosquitoes, arthropods, dengue, chikungunya, Zika, biodiversity, distribution.

RESUMEN. Introducción: La comprensión de la diversidad de mosquitos, el monitoreo de nuevas especies y la evaluación del papel de la transmisión vertical son elementos esenciales para el control de enfermedades transmitidas por vectores. **Objetivo:** Estimar la diversidad de culícidos y detectar los virus del dengue, chikungunya y Zika en larvas de *Aedes* spp. en 19 distritos de Costa Rica. **Métodos:** De agosto a noviembre de 2021 recolectamos 5 036 larvas de mosquitos en 26 lugares, las identificamos taxonómicamente, analizamos sus índices de diversidad y utilizamos la Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real para detectar ARN viral en larvas de *Aedes* spp. **Resultados:** Identificamos ocho especies de Culicidae, siendo *Aedes aegypti* la más abundante (63,3%), seguida por *Aedes albopictus* (13,9%), la cual se reporta por primera vez en Punta Morales. Ninguno de los 97 grupos de larvas analizados resultó positivo para dengue, chikungunya o Zika. **Conclusión:** La composición larval evidenció baja diversidad ecológica y ausencia de infección viral, lo que sugiere limitada transmisión vertical en el periodo estudiado y respalda la necesidad de vigilancia entomológica basada en evidencia.

Palabras clave: mosquitos, artrópodos, dengue, chikungunya, Zika, biodiversidad, distribución.

Cada año se reportan más de 700 000 muertes en el mundo asociadas a enfermedades transmitidas por artrópodos, en las que el vector puede transmitir bacterias, virus o parásitos a un hospedador susceptible. Entre estas se encuentran las enfermedades causadas por los virus dengue (DENV), chikungunya (CHIKV) y Zika (ZIKV), los cuales son arbovirus transmitidos principalmente por los mosquitos *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (WHO, 2024). Estos virus emergentes generan una importante carga sanitaria global, con estimaciones anuales de alrededor de 96 000 000 de casos de dengue, 693 000 de chikungunya y 500 000 de Zika (Franklin et al., 2019).

La distribución de estas enfermedades depende de múltiples factores sociales, demográficos y ambientales que afectan el ciclo de vida y la dispersión de los vectores. Por ello, conocer la composición y abundancia de especies de mosquitos en un área determinada, así como los cambios relacionados con la estacionalidad o el clima (Confalonieri & Costa Neto, 2012), es clave para la toma de decisiones en programas de vigilancia y control. Estos patrones ecológicos pueden cuantificarse mediante la riqueza específica, índices de diversidad y de similitud entre localidades (Morris et al., 2014).

La transmisión de arbovirus ocurre principalmente de manera horizontal, cuando el vector infecta a un hospedador durante la picadura. Sin embargo, también puede darse transmisión vertical (transovárica), en la que las hembras infectadas transmiten el virus a su descendencia. Aunque este mecanismo ocurre en menor proporción en la naturaleza, puede contribuir al mantenimiento del virus durante periodos interepidémicos (Agarwal et al., 2017; Ferreira-de-Lima & Lima-Camara, 2018; Gutierrez-Bugallo et al., 2019; Lequime & Lambrechts, 2014).

En Costa Rica se han documentado al menos dos estudios que evidencian transmisión vertical del virus dengue en *Ae. albopictus* en plantaciones de piña: uno donde se detectó DENV en mosquitos macho (Calderón-Arguedas et al., 2015) y otro que reafirma su posible rol vectorial (Calderón-Arguedas et al., 2019). No obstante, no existen reportes sobre la detección de arbovirus en larvas de *Aedes*.

El presente estudio tuvo como objetivo estimar la diversidad de culícidos y detectar la infección por DENV, CHIKV y ZIKV en larvas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* en 26 localidades de 19 distritos de Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de larvas: Las colectas las realizamos en coordinación con el Ministerio de Salud (MINSA) entre agosto y noviembre de 2021, durante la estación lluviosa, en 26 localidades distribuidas en 19 distritos ubicados por debajo de los 900m sobre el nivel del mar (Tabla 1). La selección de localidades la basamos en antecedentes de brotes o casos confirmados de DENV, CHIKV y ZIKV en el momento o en años previos. En cada sitio efectuamos una búsqueda activa de criaderos artificiales con agua estancada ubicados en espacios públicos (calles, aceras, playas), excluyendo viviendas. Las larvas recolectadas las transferimos en agua del mismo criadero para preservar su viabilidad y las trasladamos al laboratorio para su identificación inmediata.

Identificación taxonómica: Las larvas del género *Aedes* las identificamos utilizando la clave morfológica de Rueda (2004), y las del género *Culex* y *Limatus* empleando la clave para Costa Rica de Darsie (1993). La identificación del género *Limatus* la realizamos hasta nivel de género, ya que no fue posible diferenciar entre *Limatus durhamii* y *L. asulleptus* en estado larval. Las larvas de *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* las separamos y ubicamos en grupos de hasta 50 individuos, los cuales congelamos a -80°C hasta analizarlas molecularmente.

Índices ecológicos de diversidad: Estimamos la riqueza específica y el índice de Shannon-Weaver por distrito. Adicionalmente, calculamos el índice de similitud cuantitativa de Morisita-Horn para comparar la composición de comunidades larvarias entre distritos. Con base en esta matriz de

similitud construimos un dendrograma jerárquico (método UPGMA) para visualizar agrupamientos de localidades con composiciones semejantes.

Análisis molecular: Las larvas agrupadas las sometimos a extracción de ARN con el kit comercial Total RNA Purification Kit (NORGEN), siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración y pureza de los ácidos nucleicos la evaluamos mediante espectrofotometría (NanoDrop One, Thermo Scientific). Posteriormente, analizamos los grupos larvales mediante retrotranscripción seguida de PCR en tiempo real (RT-qPCR), utilizando el protocolo de Waggoner et al. (2016) para la detección de DENV (serotipos 1–4), CHIKV y ZIKV. Las secuencias objetivo fueron: región 5' UTR del gen de la cápside de DENV, proteína no estructural 2 (NSP2) para CHIKV y NS4B para ZIKV (Tabla 2). Las reacciones las realizamos en un volumen final de 25µL, utilizando 0,5µl del kit SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR (Life Technologies, Carlsbad, CA, EE. UU.), 12,5µl Maxima Probe/ROX qPCR Master Mix - 2X (Thermo Scientific, Waltham, USA), 0,25µl de la sonda (10µM), 0,75µl de cada iniciador (10µM), 5µl de ARN y 5µl de agua grado biología molecular (Thermo Scientific). Todas las reacciones las analizamos con el QuantStudio 3 Real-Time PCR System. Las condiciones de ciclado consistieron en una desnaturalización inicial a 52°C durante 15 min; 94°C durante 2min y 45 ciclos de 94°C durante 15s, 55°C durante 20s y 68°C durante 20s, con controles positivos (cultivos celulares donados por INCIENSA) y control negativo (agua libre de nucleasas). Las muestras que mostraron amplificación con una curva de crecimiento por encima del umbral dentro de los 45 ciclos las consideramos positivas.

TABLA 1

Localidades de muestreo con altitudes (metros sobre nivel del mar)

Provincia	Distrito	Localidad	Altitud (msnm)
Puntarenas	Buenos Aires	Buenos Aires	361
San José	Daniel Flores	Concepción	650
San José	San Isidro de El General	San Isidro de El General	702
Puntarenas	Chomes	Punta Morales*	3
Puntarenas	Tárcoles	Playa Azul	6
Puntarenas	Tárcoles	Tárcoles	10
Puntarenas	Jacó	Jacó	7
Cartago	Turrialba	Barrio La Margot*	625
Cartago	Turrialba	Carmen La Lira*	650
Cartago	La Isabel	La Mora*	620
Cartago	La Suiza	La Suiza	637
Cartago	Tucurrique	Tucurrique	721
Puntarenas	Pavones	Eslabón	457
Limón	Puerto Viejo	Barrio El Naranjal 1	10
Limón	Puerto Viejo	Barrio El Naranjal 2	10
Heredia	La Virgen	La Chilera	100
Heredia	La Virgen	Las Palmas	95
Limón	El Cairo	Cairo	203
Limón	Siquirres	San Rafael	127
Limón	Siquirres	San Martin	135
Limón	Guácimo	Afriquita	110
Limón	Guácimo	La Selva	102
Limón	Guácimo	La Angelina	120

Limón	Guápiles	Diamante	97
Limón	Rita	La Rita	96
Alajuela	Pital	Pital	153

TABLA 2

Iniciadores y sondas utilizados en el RT-qPCR para DENV, CHIKV y ZIKV

Agente	Tamaño amplíc n	Sonda	Iniciadores
DENV-1	114 pb	CTCGCGCGTTTCAGCATAT	Forward: CAGATCTCTGATGAACAACCAACG Reverse: TTTGAGAATCTCTTCGCCAAC
DENV-2	85 pb	CTCTCGCGTTTCAGCATAT	Forward-1: CAGATCTCTGATGAACAACCAACG Reverse-1: AGTTGACACGCGGTTTCTCT Forward-2: CAGATCTCTGATGAATAACCAACG Reverse-2: AGTCGACACGCGGTTTCTCT
DENV-3	114 pb	CTCTCACGTTTCAGCATATTG	Forward-1: CAGATCTCTGATGAACAACCAACG Forward-2: CAGATTTCTGATGAACAACCAACG Reverse: TTTGAGAATCTCTTCGCCAAC
DENV-4	110 pb	CTCACGCGTTTCAGCATAT	Forward: GATCTCTGGAAAAATGAAC Reverse: AGAATCTCTTCACCAACC
CHIKV	96 pb	GCGGTGTACTGCTGTGACYGC	Forward: CATCTGCACYCAAGTGTACCA Reverse: GCGCATTTTGCCTTCGTAATG
ZIKV	100 pb	CYGTGTGGATGGAATAGTGG	Forward: CAGCTGGCATCATGAAGAAYC Reverse-1: CACTTGTCCCATCTTCTCTCC Reverse-2: CACCTGTCCCATCTTTTCTCC

RESULTADOS

Recolectamos 5 036 larvas de mosquitos en 26 localidades pertenecientes a 19 distritos. Identificamos ocho especies: dos del género *Aedes* (*Ae. aegypti* y *Ae. albopictus*), cinco del género *Culex* (*C. coronator*, *C. corniger*, *C. quinquefasciatus*, *C. nigripalpus* y *C. interrogator*) y larvas del género *Limatus*. La especie más abundante fue *Ae. aegypti* (63,3%), seguida por *Ae. albopictus* (13,9%). Reportamos por primera vez la presencia de *Ae. albopictus* en la localidad de Punta Morales, distrito de Chomes. La especie menos representada fue *Culex coronator* (0,3%) (Tabla 3).

Ae. aegypti fue la única especie presente en casi todas las localidades (25 de 26, 96,1%). El distrito con mayor cantidad de larvas de *Ae. aegypti* fue Tárcoles (n = 520), mientras que Pavones presentó la menor cantidad (n = 4).

Respecto a la diversidad ecológica, los distritos de Guácimo y La Virgen mostraron la mayor riqueza específica (6 especies cada uno), seguidos de El Cairo y Chomes (5 especies cada uno). Los índices de diversidad ecológica más altos se registraron en Guácimo ($H = 1,30$) y La Virgen ($H = 1,28$), aunque al ser menores de 2 se consideran indicativos de baja diversidad. Varios distritos presentaron comunidades monoespecíficas, como Jacó y La Suiza (*Ae. aegypti* 100%) (Tabla 4).

El dendrograma basado en el índice de Morisita-Horn evidenció tres agrupamientos principales de distritos (Figura 1). El primero incluyó Chomes, Tárcoles, El Cairo y Guácimo; el segundo agrupó Buenos Aires, Daniel Flores y Pavones; y el tercero Jacó, La Suiza y Pital. Estos clústeres reflejan similitudes generales en la composición larvaria de culícidos. En particular, el tercer clúster se caracterizó por comunidades monoespecíficas de *Ae. aegypti*. El valor más alto de

similitud se registró entre Guácimo y El Cairo (0,85), indicando comunidades larvarias altamente parecidas (Fig. 1).

En total, recolectamos 3 188 larvas de *Ae. aegypti*, distribuidas en 74 grupos para análisis molecular. Esta especie predominó en todas las localidades excepto en Las Palmas (La Virgen, Sarapiquí), donde no fue detectada. Cuatro localidades (Carmen La Lira, Barrio La Margot, La Mora y Punta Morales) presentaban brotes activos de dengue durante la recolecta.

Recolectamos 701 larvas de *Ae. albopictus*, distribuidas en 15 localidades de 11 distritos (73,3%), y agrupadas en 23 grupos. Punta Morales fue la única localidad en brote donde recolectamos larvas de esta especie.

Del total de 97 grupos que analizamos mediante RT-qPCR (74 de *Ae. aegypti*, 23 de *Ae. albopictus*), ninguno resultó positivo para DENV, CHIKV o ZIKV (Tabla 5).

TABLA 3

Número de larvas de *Aedes*, *Culex* y *Limatus* encontradas en 19 distritos de Costa Rica, 2021

Distrito	<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Limatus</i> spp.	<i>C. coronator</i>	<i>C. corniger</i>	<i>C. quinque-fasciatus</i>	<i>C. nigripalpus</i>	<i>C. interrogator</i>	Total
Buenos Aires	30	34	2	0	0	0	0	0	66 (1,3)
Daniel Flores	2	28	50	0	0	0	5	5	90 (1,8%)
San Isidro de El General	134	15	0	0	0	0	0	0	149 (3,0%)
Chomes	429	105	45	2	3	0	0	0	584 (11,6%)
Tárcoles	520	203	0	0	115	0	0	0	838 (16,6%)
Puerto Viejo	478	33	0	0	0	0	120	0	631 (12,5%)
La Virgen	219	85	158	0	5	0	17	8	492 (9,8%)
El Cairo	185	12	72	12	106	0	0	0	387 (7,7%)
Guácimo	273	106	79	0	32	7	19	0	516 (10,2%)
Guápiles	49	74	8	0	0	0	0	0	131 (2,6%)
Rita	98	6	37	0	0	0	114	0	255 (5,1%)
Jacó	233	0	0	0	0	0	0	0	233 (4,6%)
La Isabel	34	0	13	0	3	3	0	0	53 (1,0%)
Turrialba	106	0	50	0	13	15	0	1	185 (3,7%)
La Suiza	180	0	0	0	0	0	0	0	180 (3,6%)
Pavones	4	0	0	0	0	0	5	15	24 (0,5%)
Tucurrique	50	0	4	0	1	0	0	0	55 (1,1%)
Siquirres	51	0	0	0	0	0	3	0	54 (1,1%)
Pital	113	0	0	0	0	0	0	0	113 (2,2%)
Total	3188 (63,3%)	701 (13,9%)	518 (10,3%)	14 (0,3%)	278 (5,5%)	25 (0,5%)	283 (5,6%)	29 (0,6%)	5036 (100.0%)

TABLA 4

Riqueza específica e índice de Shannon-Weaver en 19 distritos de Costa Rica, 2021

Distrito	Riqueza específica	Índice Shannon-Weber
Buenos Aires	3	0,81
Daniel Flores	5	1,10
San Isidro de El General	2	0,33
Chomes	5	0,78
Tárcoles	3	0,90
Puerto Viejo	3	0,68
La Virgen	6	1,26
El Cairo	5	1,24
Guácimo	6	1,30
Guápiles	3	0,86
Rita	4	1,10
Jacó	1	0
La Isabel	4	0,95
Turrialba	5	1,09
La Suiza	1	0
Pavones	3	0,92
Tucurrique	3	0,35
Siquirres	2	0,21
Pital	1	0

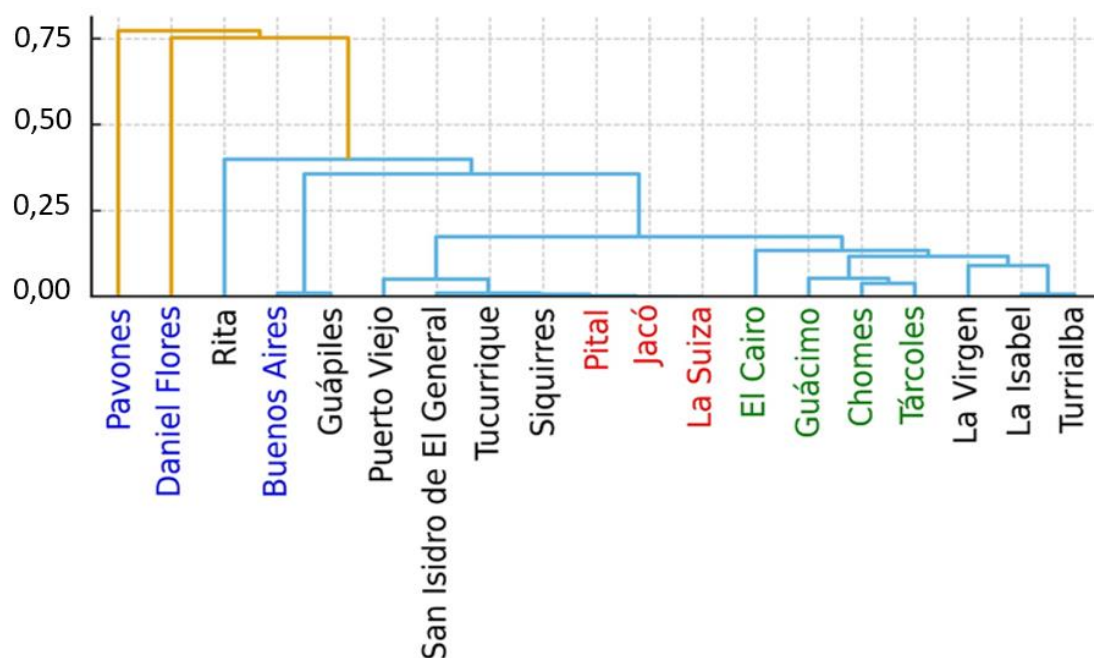


Fig.1 Dendrograma jerárquico de 19 distritos de Costa Rica según la composición de comunidades larvianas de culícidos, basado en el índice de Morisita-Horn. Se evidencian tres agrupamientos principales: (1) Chomes, Tárcoles, El Cairo y Guácimo; (2) Buenos Aires, Daniel Flores y Pavones; y (3) Jacó, La Suiza y Pital. Estos clústeres reflejan similitudes generales en la composición de especies, siendo el tercer grupo el único caracterizado por comunidades monoespecíficas de *Ae. aegypti*.

TABLA 5

Número de larvas *Ae. aegypti* y *Ae. albopictus* encontradas y número de grupos analizadas mediante RT-qPCR para DENV, ZIKV y CHIKV en 19 distritos de Costa Rica, 2021

Distrito	Localidad	<i>Ae. aegypti</i>		<i>Ae. albopictus</i>	
		Número de larvas encontradas	Número de grupos analizados	Número de larvas encontradas	Número de grupos analizados
Buenos Aires	Buenos Aires	30	1	34	1
Daniel Flores	Concepción	2	1	28	1
San Isidro de El General	San Isidro de El General	134	3	15	1
Chomes	Punta Morales*	429	9	105	3
Tárcoles	Playa Azul	370	8	73	2
Tárcoles	Tárcoles	150	3	130	3
Jacó	Jacó	233	5	0	0

Turrialba	Barrio La Margot*	76	2	0	0
Turrialba	Carmen La Lira*	30	1	0	0
La Isabel	La Mora*	34	1	0	0
La Suiza	La Suiza	180	4	0	0
Tucurrique	Tucurrique	50	1	0	0
Pavones	Eslabón	4	1	0	0
Puerto Viejo	Barrio El Naranjal 1	428	9	3	1
Puerto Viejo	Barrio El Naranjal 2	50	1	30	1
La Virgen	La Chilera	219	5	42	1
La Virgen	Las Palmas	0	0	43	1
El Cairo	Cairo	185	4	12	1
Siquirres	San Rafael	23	1	0	0
Siquirres	San Martin	28	1	0	0
Guácimo	Afriquita	74	2	42	1
Guácimo	La Selva	7	1	0	0
Guácimo	La Angelina	192	4	64	2
Guápiles	Diamante	49	1	74	3
Rita	La Rita	98	2	6	1
Pital	Pital	113	3	0	0
Total		3 188	74	701	23

* Localidad con brote activo de DENV

DISCUSIÓN

El monitoreo entomológico es fundamental para actualizar el conocimiento sobre la diversidad, abundancia y distribución de mosquitos hematófagos, especialmente en zonas donde factores como el cambio climático, la urbanización y el uso del suelo están modificando los hábitats naturales (Casas Martínez, 2012). En este estudio, *Ae. aegypti* fue la especie más frecuente, lo cual coincide con estudios previos en Costa Rica (Calderón-Arguedas et al., 2004; Marín et al., 2009). Sin embargo, en este caso, la segunda especie más común fue *Ae. albopictus*, desplazando a otras especies como *Culex quinquefasciatus* o *Limatus durhamii* reportadas como secundarias en otras investigaciones.

La alta abundancia de *Ae. aegypti* puede explicarse por su carácter domiciliario, su plasticidad ecológica y su adaptación a múltiples criaderos urbanos, lo que le permite establecer poblaciones estables en distintos ambientes (Kweka et al., 2019). Esta dominancia fue particularmente evidente en distritos con menor diversidad como Jacó, La Suiza y Pital, donde solo se detectó una especie. En contraste, Guácimo y La Virgen presentaron mayor riqueza (6 especies), posiblemente debido a condiciones ambientales favorables compartidas entre ambas zonas, situadas a menos de 100 km de distancia.

El hallazgo de cinco especies del género *Culex* refuerza la importancia de este grupo en salud pública. *Culex quinquefasciatus*, *C. coronator*, *C. corniger*, *C. nigripalpus* y *C. interrogator* han sido implicadas como vectores de filarias (Calderón-Arguedas et al., 2009; Lieske, 1954), virus Oeste del Nilo, virus de la encefalitis de San Luis y virus de encefalitis equina del Este, todos con circulación confirmada en Costa Rica (Romero-Vega et al., 2022).

La presencia de *Ae. albopictus* en once distritos, incluyendo un nuevo registro para Punta Morales, sugiere una expansión reciente hacia zonas costeras y periurbanas, como ha sido documentado en Costa Rica por Calderón-Arguedas et al. (2010)

Por otro lado, el uso de diversidad beta para agrupar distritos con similar composición larvaria refuerza su potencial como herramienta para regionalizar estrategias de vigilancia entomológica. Este enfoque es congruente con estudios como el de Ippoliti et al. (2019), que utilizaron agrupamiento ecológico para definir ecorregiones enfocadas en el control vectorial.

El análisis de diversidad beta mediante el dendrograma de Morisita-Horn permitió identificar agrupamientos de distritos con comunidades larvarias similares. Aunque los patrones no siempre corresponden a la dominancia de una especie en particular, este tipo de análisis es útil para evidenciar semejanzas generales en la composición entre localidades. En este sentido, el tercer clúster (Jacó, La Suiza y Pital) coincidió con comunidades monoespecíficas de *Ae. aegypti*, mientras que los otros grupos reflejan asociaciones más complejas donde varias especies coexisten en proporciones variables. Este resultado subraya la importancia de utilizar enfoques multivariados para interpretar la estructura de comunidades de mosquitos, en lugar de basarse únicamente en la abundancia de una o pocas especies dominantes.

La ausencia de detección de DENV, CHIKV o ZIKV en las larvas analizadas puede explicarse por varios factores. Primero, solo el 17,3% de los grupos larvales fueron recolectados en localidades con brotes activos al momento del muestreo. Esto reduce significativamente la probabilidad de detectar transmisión vertical. Estudios en Brasil mostraron resultados similares, como los realizados por Pinheiro et al. (2005) donde no detectaron DENV en 1816 insectos y por Maniero et al. (2019) que solo detectaron ZIKV tras recolectas sistemáticas durante 10 meses. Además, se ha reportado que las tasas de transmisión transovárica en condiciones naturales oscilan entre 0,2% y 0,8% (da Costa et al., 2017; Lequime & Lambrechts, 2014), lo que implica que grandes cantidades de muestras serían necesarias para evidenciar este fenómeno. Los factores climáticos también influyen ya que las tasas de transmisión vertical suelen ser más altas en climas áridos (Lequime et al., 2016), lo cual podría limitar su detección en zonas tropicales húmedas como las estudiadas.

A pesar del esfuerzo de muestreo, este estudio no incluyó criaderos intra-domiciliarios ni evaluó la productividad larval de los recipientes, lo cual limita el análisis de abundancia real y potencial vectorial. Tampoco se aplicaron índices entomológicos clásicos (como el de Breteau), ni se realizaron curvas de rarefacción, debido a que el diseño del estudio no fue sistemático por localidad. Estas limitaciones se reconocen y se propone abordarlas en investigaciones futuras.

Los valores bajos del índice de Shannon-Weaver y la alta similitud entre localidades (Morisita-Horn = 0,85 entre Guácimo y El Cairo) indican una baja heterogeneidad en las comunidades larvales, lo que respalda la interpretación de regionalización ecológica propuesta en el dendrograma. Se recomienda realizar estudios complementarios durante la estación seca, con mayor cobertura espacial y temporal, incluyendo métodos de vigilancia intensiva, para evaluar adecuadamente el posible rol de la transmisión vertical en el mantenimiento de los arbovirus en periodos interepidémicos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Ministerio de Salud de Costa Rica, en especial a Rodrigo Marín, Manuel Gutiérrez, Gabriela Delgado, Carlos Aguilar y a los técnicos de los niveles regionales por su valiosa colaboración en la colecta de muestras. Agradecemos también al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) por otorgar becas de estudio a Sonia Flores Núñez y Edwin Beltré Núñez.

ETICA, CONFLICTO DE INTERÉS Y FINANCIAMIENTO



Los autores declaramos que cumplimos con todos los requisitos éticos y legales aplicables durante la ejecución del estudio y la elaboración del manuscrito. No existen conflictos de interés. Este estudio fue financiado por el Proyecto FUNDAUNA “Diagnóstico e Investigación en Medicina Poblacional y Ecosistémica”. Todos los autores aprobamos la versión final del artículo y hemos archivado la documentación ética requerida ante la revista. La declaración de la contribución de cada autor al manuscrito es la siguiente: Todos los autores: Diseño del estudio. S.F.N., E.B.N., A.J.R., G.D.: Análisis de laboratorio. S.F.N., E.B.N., S.A.V.: Recopilación y análisis de datos. Todos los autores: Preparación y aprobación final del manuscrito.

REFERENCIAS

- Agarwal, A., Parida, M., & Dash, P.K. (2017). Impact of transmission cycles and vector competence on global expansion and emergence of arboviruses. *Reviews in Medical Virology*, 27(5):e1941. <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.1941>
- Calderón-Arguedas, O., Avendaño, A., López-Sánchez, W. & Troyo, A. (2010). Expansion of *Aedes albopictus* skull in Costa Rica. *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología* 69(2):220-222.
- Calderón-Arguedas, O., Troyo, A., Moreira-Soto, R.D., Marín, R., & Taylor, L. (2015). Dengue viruses in *Aedes albopictus* Skuse from a pineapple plantation in Costa Rica. *Journal of Vector Ecology*, 40(1):184–6. <http://dx.doi.org/10.1111/jvec.12149>
- Calderón-Arguedas, O., Moreira-Soto, R., Vicente-Santos, A., Corrales-Aguilar, E., Rojas-Araya, D., & Troyo, A. (2019). Papel potencial de *Aedes albopictus* Skuse en la transmisión de virus dengue (DENV) en una zona de actividad piñera de Costa Rica. *Revista Biomédica*, 30:43–51. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v30i2.640>
- Calderón-Arguedas, O., Troyo, A., & Solano, M.E. (2004). Diversidad larval de mosquitos (Diptera: Culicidae) en contenedores artificiales procedentes de una comunidad urbana de San José, Costa Rica. *Parasitología Latinoamericana*, 59(3–4):132–6. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-77122004000300007
- Calderón-Arguedas, O., Troyo, A., Solano, M.E., & Avendaño, A. (2009). Culicidofauna asociada con contenedores artificiales en la comunidad “La Carpio”, Costa Rica. *Revista Costarricense de Salud Pública*, 18(1):30–36. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292009000100006
- Casas Martínez, M. (2012). Diversidad y distribución geográfica de las especies de culícidos de importancia médica en la región centro-occidental de México. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Informe final del Proyecto FE009 (CRISP / INSP / CONABIO). <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfFE009.pdf>
- Confalonieri, U.E.C., Costa Neto, C. (2012). Diversity of mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Caxiuana, Pará, Brazil. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, Article 741273. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/741273>
- da Costa, C.F., Dos Passos, R.A., Lima, J.B.P., Roque, R.A., de Souza Sampaio, V., Campolina, T.B., Costa Secundino, N.F., & Paolucci Pimenta, P.F. (2017). Transovarial transmission of DENV



- in *Aedes aegypti* in the Amazon basin: a local model of xenomonitoring. *Parasites and Vectors*, 10(1). <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-017-2194-5>
- Darsie, R.F. (1993). Keys to the mosquitoes of Costa Rica (Diptera: Culicidae). Columbia, SC: University of South Carolina.
- Ferreira-de-Lima, V.H., & Lima-Camara, T.N. (2018). Natural vertical transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: a systematic review. *Parasites and Vectors*, 11(1). <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-018-2643-9>
- Franklinos, L.H.V., Jones, K.E., Redding, D.W., & Abubakar, I. (2019). The effect of global change on mosquito-borne disease. *Lancet Infectious Diseases*, e302–312. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(19\)30161-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(19)30161-6)
- Gutiérrez-Bugallo, G., Piedra, L.A., Rodriguez, M., Bisset, J.A., Lourenço-de-Oliveira, R., Weaver, S.C., Vasilakis, N., & Vega-Rúa, A. (2019). Vector-borne transmission and evolution of Zika virus. *Nature, Ecology and Evolution*, 3(4):561–9. <http://dx.doi.org/10.1038/s41559-019-0836-z>
- Ippoliti, C., Candeloro, L., Gilbert, M., Goffredo, M., Mancini, G., Curci, G., Falasca, S., Tora, S., Di Lorenzo, A., Quaglia, M., & Conteet, A. (2019). Defining ecological regions in Italy based on a multivariate clustering approach: A first step towards a targeted vector-borne disease surveillance. *Plos One* 14(7): e0219072. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219072>
- Kweka Kweka, E., Baraka, V., Mathias, L., Mwangonde, B., Baraka, G., Lyaruu, L., & Mahande, A. M. (2019). Ecology of *Aedes* mosquitoes, the major vectors of arboviruses in human population. In J. A. Falcón-Lezama, M. Betancourt-Cravioto, & R. Tapia-Conyer (Eds.), *Dengue Fever - a Resilient Threat in the Face of Innovation*. IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2207.160326>
- Lequime, S., & Lambrechts, L. (2014). Vertical transmission of arboviruses in mosquitoes: A historical perspective. *Infection, Genetics and Evolution*, 28:681–90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.07.025>
- Lequime, S., Paul, R.E., & Lambrechts, L. (2016). Determinants of arbovirus vertical transmission in mosquitoes. *PLoS Pathogens*, 12(5):e1005548. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1005548>
- Lieske, H. (1954.)Filariasis en Puerto Limón, Costa Rica. *Revista Biología Tropical*, 2(1):37–44. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/28832>
- Maniero, V.C., Rangel, P.S.C., Coelho, L.M.C., Silva, C.S.B., Aguiar, R.S., Lamas, C.C., & Cardozo, S.V. (2019). Identification of Zika virus in immature phases of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: a surveillance strategy for outbreak anticipation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 52(11), e98339. <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431x20198339>
- Marín, R., del Carmen Marquetti, M., Álvarez, Y., Gutiérrez, J.M., & González, R. (2009). Especies de mosquitos (Diptera: Culicidae) y sus sitios de cría en la Región Huetar Atlántica, Costa

Rica. Revista Biomedica, 20(1):15–23. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=22081>

Morris, E.K., Caruso, T., Buscot, F., Fischer, M., Hancock, C., Maier, T.S., Meiners, T., Müller, C., Obermaier, E., Prati, D., Socher, S.A., Sonnemann, I., Wäschke, N., Wubet, T., Wurst, S., & Rillig, M.C. (2014). Choosing and using diversity indices: insights for ecological applications from the German Biodiversity Exploratories. *Ecology and Evolution*, 4(18):3514–24. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1155>

Pinheiro, V.C.S., Tadei, W.P., Barros, P.M., Vasconcelos, P.F.C., & Cruz, A.C.R. (2005). Detection of dengue virus serotype 3 by reverse transcription-polymerase chain reaction in *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) captured in Manaus, Amazonas. *Memorias Instituto Oswaldo Cruz*, 100(8):833–9. <http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762005000800003>

Romero-Vega, L.M., Piche-Ovares, M., Soto-Garita, C., Barrantes-Murillo, D.F., Chaverri, L.G., Alfaro-Alarcón, A., Corrales-Aguilar, E., & Troyo, A. (2022). Seasonal changes of mosquito communities structure in two endemic regions for arboviruses in Costa Rica: Species richness, diversity, bloodmeal preferences and viral positivity. *Research Square*, 19 pages. <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-1991817/v1>

Rueda, L.M. (2004). Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue Virus Transmission. *Zootaxa*, 589(1):1. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.589.1.1>

Waggoner, J.J., Gresh, L., Mohamed-Hadley, A., Ballesteros, G., Davila, M.J.V., Tellez, Y., Sahoo, M.K., Balmaseda, A., Harris, E., & Pinsky, B. A., (2016). Single-reaction multiplex reverse transcription PCR for detection of Zika, Chikungunya, and dengue viruses. *Emerging Infectious Diseases*, 22(7):1295–7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2207.160326>

World Health Organization. (2024). Vector-borne diseases. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>