

Mosquitos y transmisión de patógenos zoonóticos en una zona endémica del virus del Nilo Occidental: identificando el papel de la microbiota de los vectores en un contexto de cambio global

Josué Martínez de la Puente^{1,2}, Jesús Veiga¹, Marta Garrigós¹, Paula Parra¹, Mario Garrido³

¹Estación Biológica de Doñana (EBD, CSIC). Sevilla. ²Ciber de Epidemiología y Salud Pública. Madrid. ³Universidad Rey Juan Carlos de Madrid. Madrid.

Resumen

Introducción: Los componentes del cambio global afectan a la capacidad vectorial de los mosquitos que viene determinada por, entre otros factores, su microbiota. El objetivo principal de este trabajo es identificar la importancia de la microbiota de los mosquitos en su capacidad vectorial y como esto puede verse afectado por el cambio global.

Material y método: Se recopila información publicada por el grupo investigador, donde se identifican las diferencias en la microbiota entre especies de mosquitos y los efectos que ciertos compuestos con capacidad antimicrobiana tienen sobre distintos componentes de la capacidad vectorial, al alterar dicha microbiota.

Resultados: La microbiota de *Culex perexiguus*, el principal vector del virus del Nilo Occidental (VNO) en Andalucía, presenta una baja prevalencia y abundancia de *Wolbachia*, en contraposición a *Culex pipiens*. En esta última, se han encontrado relaciones negativas entre *Wolbachia* y el desarrollo del VNO. La exposición de larvas de mosquitos a gentamicina y penicilina-estreptomycin incrementa la tasa de supervivencia de las hembras de mosquito en su estadio adulto.

Conclusiones: Factores como la urbanización, la exposición a antibióticos o el cambio climático, determinan la capacidad vectorial de los mosquitos afectando sus poblaciones y alterando su microbiota. La microbiota de los mosquitos difiere entre especies, y junto con sus alteraciones inducidas por antibióticos, pueden tener implicaciones epidemiológicas por sus efectos sobre la tasa de supervivencia de los mosquitos y su expresión genética. Además, otros condicionantes ambientales deben ser tenidos en cuenta para entender plenamente la compleja epidemiología de los patógenos de transmisión vectorial.

Palabras clave:

Aedes albopictus. Andalucía.
Culex pipiens. Enfermedades emergentes. Especies invasoras.
Virus del Nilo Occidental.

Mosquitoes and zoonotic pathogen transmission in a West Nile virus endemic area: identifying the role of vector microbiota in the context of global change

Summary

Introduction: Components of global change affect the vectorial capacity of mosquitoes which is determined, among other factors, by their microbiota. The main aim of this study is to identify the importance of mosquito microbiota in their vectorial capacity and how it may be influenced by global change.

Materials and method: We compile information published by the research group, identifying differences in the microbiota among mosquito species and the effects of microbiota disruption, caused by compounds with antimicrobial activity, have on different components of the mosquito vector competence.

Results: *Culex perexiguus* microbiota, the main vector of West Nile virus (WNV) in Andalusia, shows an extremely low prevalence and abundance of *Wolbachia*, in contrast to *Culex pipiens*. In the last species, negative relationships between *Wolbachia* and WNV development have been found. The exposure of mosquito larvae to gentamicin and penicillin-streptomycin increases the survival rate of adult female mosquitoes.

Conclusions: Factors such as urbanization, antibiotic exposure or climate change, determine the vectorial capacity of mosquitoes by affecting their populations and altering their microbiota. Mosquito microbiota varies among species, and antibiotic-induced alterations may have epidemiological implications due to their effects on mosquito survival rates and transcriptomics. In addition, other environmental factors must also be considered to fully understand the complex epidemiology of vector-borne pathogens.

Key words:

Aedes albopictus. Andalusia.
Culex pipiens. Emerging diseases.
Invasive species. West Nile virus.

Correspondencia: Josué Martínez de la Puente
E-mail: jmp@ebd.csic.es

Introducción

Los factores asociados al cambio global, incluyendo aspectos como el cambio climático, la alteración de los usos del suelo o la introducción de especies invasoras, contribuyen a la emergencia y reemergencia de enfermedades con relevancia en salud pública. Muchos de estos patógenos se transmiten mediante vectores, principalmente artrópodos, en especial insectos, que los transmiten desde un individuo infectado hasta un nuevo hospedador. Entre los principales grupos de vectores están los mosquitos, transmisores de patógenos de gran importancia como virus y diferentes grupos de parásitos, incluyendo patógenos zoonóticos, es decir, que circulan naturalmente entre la fauna, pero pueden infectar a las personas.

Un ejemplo de ello es el virus del Nilo Occidental (VNO), un flavivirus transmitido por mosquitos que encuentra en las aves sus principales reservorios. Las personas infectadas se consideran fondos de saco, ya que en ellas el virus no es capaz de replicar a niveles suficientes como para transmitirse de nuevo a los vectores. La infección en las personas puede cursar de un modo sintomático, llegando a producir la muerte en un porcentaje reducido, aunque relevante, de los casos.

La epidemiología de los patógenos de transmisión vectorial se encuentra determinada por factores que modulan las poblaciones de mosquitos y sus interacciones con los patógenos. Cabe señalar que, de las especies conocidas de mosquitos, solo un porcentaje reducido son vectores de patógenos con relevancia en salud pública¹. Se incluyen especies nativas e invasoras de nuestro entorno, donde factores como su comportamiento alimenticio, su competencia vectorial (es decir, su capacidad para desarrollar y transmitir los patógenos) y otros componentes de la capacidad vectorial, determinan su relevancia como vectores.

En Europa, más allá de las especies nativas de mosquitos, destaca el papel como vector de especies invasoras del género *Aedes*², como el mosquito tigre *Aedes albopictus*. *Aedes albopictus* está catalogada como una de las 100 especies más dañinas del planeta por su importancia como vector de patógenos que causan importantes enfermedades en los seres humanos, como los virus causantes del Zika o dengue, entre otros^{3,4}.

El objetivo principal de este trabajo es identificar la relevancia de la microbiota de los mosquitos como modulador de su capacidad vectorial, considerando las especies involucradas en la transmisión del VNO. Para ello, se entiende por microbiota el conjunto de bacterias con diferentes relaciones simbióticas presentes en los mosquitos. Además, se explora como los componentes del cambio global pueden modular esta microbiota y las interacciones vector-patógeno.

Material y método

En este trabajo, se recopilan y revisan los principales resultados de nuestro grupo de investigación sobre los factores que determinan la transmisión de patógenos por mosquitos en Andalucía, con especial atención al papel de la microbiota de los mosquitos en la transmisión de patógenos como el VNO, en un contexto de cambio global. Se consideran especialmente aspectos como la urbanización del medio y la presencia de contaminantes con capacidad antimicrobiana sobre las poblaciones de mosquitos y su capacidad vectorial. También se han recopilado algunos datos sobre los efectos sobre las poblaciones de mosquitos de los cambios en nuestra área de trabajo en relación al clima (temperaturas, régimen de precipitaciones) y cambios en los usos del suelo, como la urbanización.

Resultados

Estudios recientes de nuestro grupo de investigación han permitido profundizar más en el conocimiento de la composición de la microbiota de los mosquitos en Andalucía y explorar sus potenciales implicaciones en la transmisión de patógenos en esta región. Por ejemplo, la microbiota de *Culex pipiens* está dominada por bacterias del género *Wolbachia*⁵, un simbiote intracelular, mientras que esta bacteria presenta una prevalencia extremadamente baja en la especie emparentada *Culex perexiguus*⁶. Así, el análisis molecular de la composición de la microbiota de hembras de *Cx. perexiguus*, agrupados en pools de 10 individuos capturados durante 2020 en la zona del brote por VNO en la provincia de Sevilla, evidenció que *Wolbachia* solo estaba presente en 4 de los 40 pools analizados, con una baja abundancia (inferior a 0,001). También comprobamos como la exposición de mosquitos a una dosis de un cóctel de antibióticos en el agua de desarrollo de las larvas afecta a la supervivencia de los mosquitos adultos. Al tratar el agua con gentamicina y penicilina-estreptomicina, observamos que las hembras adultas emergidas de las larvas expuestas presentaron un aumento significativo en su tasa de supervivencia al alimentarse con una dieta de agua azucarada, similar a la disponible en la naturaleza⁷. Finalmente, se destacan estudios sobre el papel de las características del hábitat sobre las poblaciones de mosquitos, identificándose los efectos contrapuestos en función de la especie de que se trate^{8,9}.

Discusión

Existe una marcada diferencia en la contribución de las distintas especies de mosquitos en la transmisión de patógenos.

La capacidad vectorial de los mosquitos, es decir, la importancia que tiene una determinada población de mosquitos en la transmisión de un patógeno dado, viene marcada por diferentes factores bióticos y abióticos. Entre ellos, la estructura del hábitat es un factor clave que afecta a la abundancia de vectores en el territorio, principalmente mediado por la disponibilidad de lugares de cría y de hospedadores de los que alimentarse. La antropización del medio y los cambios intensos en los usos del suelo, componentes relevantes del cambio global, representan un factor clave afectando de una manera diferencial a la abundancia de diferentes especies de mosquitos⁸. Algunas especies de mosquitos encuentran en los terrenos urbanizados un hábitat idóneo para su desarrollo, como en el caso del mosquito tigre. Estructuras como ciertos tipos de imbornales afectan a la disponibilidad de lugares de cría de los mosquitos en las ciudades, lo que puede afectar la presencia y abundancia de estos insectos en hábitats antropizados¹⁰. Esto tiene implicaciones epidemiológicas, ya que *Ae. albopictus* es vector de virus como el causante del Zika¹¹, siendo también responsable de la ocurrencia brotes por dengue en el continente europeo¹². *Aedes albopictus* también parece jugar un papel relevante en la transmisión de otros parásitos que circulan naturalmente en Europa, como *Dirofilaria*¹³. Recientemente se detectaron dos personas infectadas por este parásito en Barcelona, en lo que parecen eventos de transmisión local, donde la especie invasora podría haber estado involucrada, aunque no pudo demostrarse¹⁴.

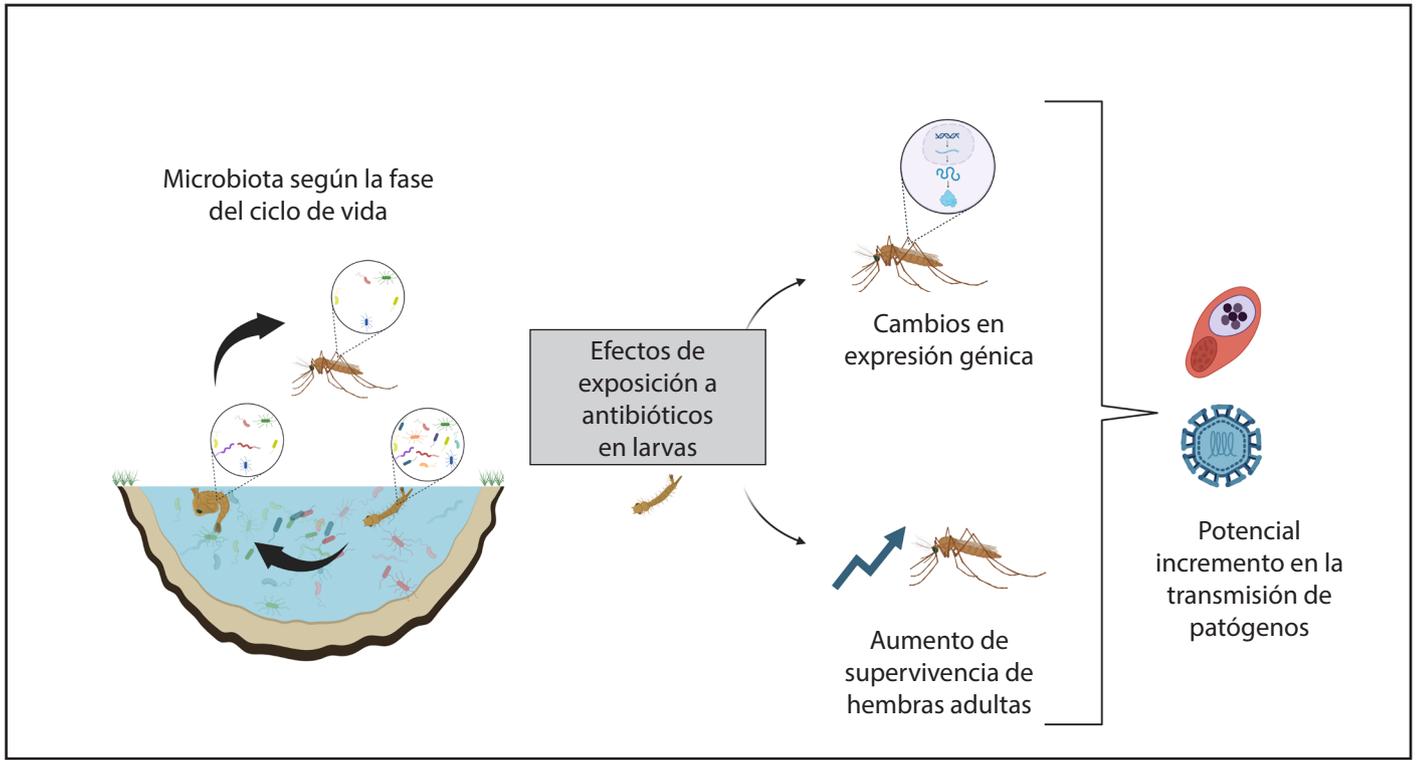
Evidentemente, la consideración de estas especies invasoras en la transmisión de patógenos no tiene que dejar de lado la vigilancia de las especies nativas de nuestro territorio que son los principales vectores de patógenos como el VNO, responsable de importantes brotes en Andalucía¹⁵. Precisamente, este es el caso de *Cx. perexiguus*, el principal vector del VNO en esta comunidad. En contraposición a lo que se encuentra en el mosquito tigre, para *Cx. perexiguus* se ha demostrado un efecto negativo de los procesos de urbanización del medio en sus poblaciones⁹. No obstante, el efecto de otras variables como los cambios en la temperatura o precipitaciones, que afecte, por ejemplo, la disponibilidad de zonas de cría, deben ser igualmente considerados en estudios futuros por los efectos que pudieran tener en las poblaciones de estos insectos¹⁶.

Estudios recientes ponen de manifiesto que la importancia de los mosquitos en la transmisión de patógenos puede estar también mediada por su interacción con otros organismos. Entre ellos destaca la microbiota bacteriana de los mosquitos, la cual es un importante modulador de su capacidad vectorial^{4,5}. La microbiota de los mosquitos es un componente dinámico, es decir, variable en su composición a lo largo de la vida de los

insectos. Los mosquitos obtienen su microbiota principalmente durante las fases acuáticas de desarrollo. Con posterioridad, esta microbiota se ve mayoritariamente filtrada por la metamorfosis y, durante el estadio adulto, por los patrones de alimentación, ya sea de la sangre de sus hospedadores vertebrados, en el caso de las hembras, o de secreciones azucaradas de las plantas y agua, en el caso de ambos sexos (Figura 1). La microbiota de los mosquitos no solo varía considerablemente entre especies, sino también según su origen y exposición a diversos contaminantes ambientales. Desde un punto de vista epidemiológico, la composición de la microbiota de los mosquitos es especialmente importante por sus potenciales implicaciones en su capacidad vectorial ya que determina aspectos de la biología de estos insectos, así como la interacción entre los mosquitos con los patógenos que pueden transmitir¹⁷ (Figura 1).

Nuestros resultados evidencian claras diferencias en la composición de la microbiota entre especies de mosquitos presentes en el sur de España, con potenciales implicaciones en la transmisión de patógenos. Dada la implicación de *Wolbachia* en la transmisión de patógenos por mosquitos, como en el caso del VNO, las diferencias en la microbiota entre *Cx. perexiguus* y *Cx. pipiens* podrían explicar, al menos en parte, la diferente contribución de ambas especies en la transmisión del VNO en Andalucía, destacando *Cx. perexiguus* como el vector principal¹⁵. Una revisión reciente evidencia que diversos estudios experimentales encontraron una correlación negativa entre *Wolbachia* y las infecciones por VNO en mosquitos del complejo *Cx. pipiens*, aunque los resultados con muestras de campo no son concluyentes⁵. Diferencias en la prevalencia y abundancia de este endosimbionte en mosquitos podría determinar la diferente contribución de las especies o poblaciones de mosquitos en la transmisión del VNO. No obstante, una mayor certeza sobre esta relación y su posible aplicación en el control de vectores, requiere de un conocimiento más exhaustivo de su prevalencia, diversidad y distribución en el medio natural. Por otro lado, también hemos comprobado como la exposición de los mosquitos a antibióticos afecta a la composición de su microbiota y a un importante componente de la capacidad vectorial, como es la tasa de supervivencia de las hembras de mosquito de la especie *Cx. pipiens*⁷. Evidentemente estos resultados tienen implicaciones epidemiológicas: un aumento en la tasa de supervivencia de estos vectores tiene un efecto positivo en su capacidad vectorial. Por otro lado, los resultados preliminares de los estudios que estamos desarrollando actualmente sugieren que la exposición de los mosquitos a estos antibióticos también tiene efectos significativos sobre sus respuestas transcriptómicas, es decir, los genes que se están expresando. Concretamente, afectando a genes relacionados

Figura 1. Cambios en la microbiota bacteriana de los mosquitos durante sus fases de desarrollo y las implicaciones que la exposición a antibióticos puede tener sobre la capacidad vectorial de estos insectos.



con la respuesta inmune de los mosquitos, las cuales podrían modular las tasas de desarrollo de los patógenos con los que interactúan (datos no publicados).

En conjunto, los diferentes componentes del cambio global tienen una clara implicación en la transmisión de patógenos por mosquitos, entre otros, por los efectos que puedan tener sobre las poblaciones de estos insectos y sus interacciones con otros organismos como la microbiota. El papel de la microbiota bacteriana como un modulador de las respuestas de los mosquitos a los patógenos con los que interactúan debe ser explorado en mayor profundidad, con el fin de identificar aspectos básicos como su composición en las poblaciones naturales de mosquitos y los factores que determinan su variación, así como los mecanismos que pudieran afectar su capacidad para transmitir patógenos de relevancia en ecología y salud pública.

Agradecimientos

Estos resultados derivan de diferentes proyectos que incluyen PID2020-118205GB-I00 financiado por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y CNS2022-135993 financiado por la misma institución y fondos European Union NextGene-

rationEU. M Garrigós y PP están financiadas por los contratos PRE2021-098544 y PREP2023-001571, respectivamente. JV estuvo financiado por la ayuda FJC2021-048057-I financiada por MICIU/AEI/10.13039/501100011033 y por la Unión Europea NextGenerationEU/PRTR. Los autores agradecen la involucración de otros autores y autoras de los trabajos citados que han permitido profundizar en el papel de la microbiota de los mosquitos en la transmisión de patógenos.

Bibliografía

1. Yee DA, Dean Bermond C, Reyes-Torres LJ, Fijman NS, Scavo NA, Nelsen J, *et al.* Robust network stability of mosquitoes and human pathogens of medical importance. *Parasit Vectors.* 2022;15:216.
2. Medlock JM, Hansford KM, Schaffner F, Versteirt V, Hendrickx G, Zeller H, *et al.* A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:435-47.
3. Pereira-dos-Santos T, Roiz D, Lourenço-de-Oliveira R, Paupy C. A systematic review: Is *Aedes albopictus* an efficient bridge vector for zoonotic arboviruses? *Pathogens.* 2020;9:266.
4. Garrido M, Veiga J, Garrigós M, Martínez-de la Puente J. The interplay between vector microbial community and pathogen transmission

- on the invasive Asian tiger mosquito, *Aedes albopictus*: Current knowledge and future directions. *Front Microbiol.* 2023;14:1208633.
5. Garrigós M, Garrido M, Panisse G, Veiga J, Martínez-de la Puente J. Interactions between West Nile virus and the microbiota of *Culex pipiens* vectors: a literature review. *Pathogens.* 2023;12:1287.
 6. Garrigós M, Garrido M, Ruiz-López MJ, García-López MJ, Veiga J, Magallanes S, et al. Microbiota composition of *Culex perexiguus* mosquitoes during the West Nile virus outbreak in southern Spain. *PLoS One.* 2024;19:e0314001.
 7. Garrigós M, Garrido M, Morales-Yuste M, Martínez de la Puente J, Veiga J. Survival effects of antibiotic exposure during the larval and adult stages in the West Nile virus vector *Culex pipiens*. *Insect Sci.* 2024;31:542-50.
 8. Perrin A, Glaizot O, Christe P. Worldwide impacts of landscape anthropization on mosquito abundance and diversity: A meta-analysis. *Glob Chang Biol.* 2022;28:6857-71.
 9. Ferraguti M, Martínez-de la Puente J, Roiz D, Ruiz S, Soriguer R, Figuerola J. Effects of landscape anthropization on mosquito community composition and abundance. *Sci Rep.* 2016;6:29002.
 10. Ferraguti M, Martínez-de la Puente J, Brugueras S, Millet JP, Rius C, Valsecchi A, et al. Spatial distribution and temporal dynamics of invasive and native mosquitoes in a large Mediterranean city. *Sci Total Environ.* 2023;896:165322.
 11. Gutiérrez-López R, Figuerola J, Martínez-de la Puente J. Methodological procedures explain observed differences in the competence of European populations of *Aedes albopictus* for the transmission of Zika virus. *Acta Trop.* 2023;237:106724.
 12. Laverdeur J, Desmecht D, Hayette MP, Darcis G. Dengue and chikungunya: future threats for Northern Europe?. *Front Epidemiol.* 2024;4:1342723.
 13. Cancrini G, Di Regalbono AF, Ricci I, Tessarin C, Gabrielli S, Pietrobelli M. *Aedes albopictus* is a natural vector of *Dirofilaria immitis* in Italy. *Vet Parasitol.* 2003;118:195-202.
 14. Laynez-Roldán P, Martínez-de la Puente J, Montalvo T, Mas J, Muñoz J, Figuerola J, et al. Two cases of subcutaneous dirofilariasis in Barcelona, Spain. *Parasitol Res.* 2018;117:36793681.
 15. Figuerola J, Jiménez-Clavero MÁ, Ruíz-López MJ, Llorente F, Ruiz S, Hofer A, et al. A one health view of the West Nile virus outbreak in Andalusia (Spain) in 2020. *Emerg Microbes Infect.* 2022;11:2570-8.
 16. Roiz D, Ruiz S, Soriguer R, Figuerola J. Climatic effects on mosquito abundance in Mediterranean wetlands. *Parasit Vectors.* 2014;7:333.
 17. Cansado-Utrilla C, Zhao SY, McCall PJ, Coon KL, Hughes GL. The microbiome and mosquito vectorial capacity: rich potential for discovery and translation. *Microbiome.* 2021;9:111.