

Caracterización bioquímica y molecular de sub-poblaciones silvestres de *Aedes aegypti* (l) de Venezuela sometidas a presión con insecticidas de uso común.

(Biochemical and molecular characterization of *Aedes aegypti* (l) wild sub-populations from Venezuela submitted to pressure with common use insecticides)

Autor: Leslie Coromoto Álvarez González
Tutoras: Dra. Adriana E. Flores S. y Dra. Milagros J. Oviedo A.

Doctorado en Ciencias con acentuación en Entomología Médica. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

RESUMEN

Se analizó la resistencia a los insecticidas temefos, malatión y deltametrina en 4 sub-poblaciones de *Aedes aegypti* de Venezuela durante los años 2008 y 2010 siguiendo el protocolo de la OMS (1981) y la metodología de botellas impregnadas Brogdon y McAllister (1998), así como los mecanismos de resistencia enzimáticos y mutación *kdr*. Las sub-poblaciones Pampanito (PTO), Tres Esquinas (TE), Lara y Ureña evaluadas en este estudio mostraron baja resistencia al temefos ($FR_{CL50} < 5$) en ambos períodos de investigación con niveles sobre-expresados de β -esterasas en la sub-población Lara 2008 y TE para el 2010, así como MFO para PTO 2008, los cuales no fueron asociados con la baja resistencia encontrada debido a que no cumplieron los tres criterios propuestos en este estudio para asociar las enzimas detoxificativas con la resistencia. Todas las sub-poblaciones mostraron baja resistencia al organofosforado malatión en el 2008 y 2010 con valores de $FR_{CL50} < 5$ y sobre-expresión de alfa-esterasas cuyo papel en el metabolismo del organofosforado no se pudo dilucidar en el presente estudio. Con respecto a la deltametrina se observó baja resistencia al derribo en la sub-población PTO con un FR_{CK50} de 4.9 y moderada resistencia en las sub-poblaciones TE, Lara y Ureña con valores de FR_{CK50} entre 5 y 10 para el 2008. Para el 2010 los valores de CK_{50} aumentaron significativamente en todas las sub-poblaciones, pero solo la sub-población Ureña mostró alta resistencia al derribo, asociando dicha resistencia con la presencia de la mutación Ile1016 en el canal de sodio cuyas frecuencias oscilaron entre 0.01 y 0.37. Resistencia moderada post-recuperación a la deltametrina durante el año 2008 fue observada en la mayoría de las sub-poblaciones, la cual evolucionó para

el 2010 registrándose valores de FR_{CL50} de 9.3 en PTO y en el resto de las sub-poblaciones valores >10 , correspondiendo a una alta resistencia post-recuperación al piretroide la cual no se asoció a los niveles sobre-expresados de GST y MFO. Los resultados obtenidos evidencian que la resistencia es dinámica en el tiempo y el espacio, por lo que deben realizarse evaluaciones periódicas que incluyan bioensayos de susceptibilidad y determinación de mecanismos asociados a la resistencia a insecticidas para obtener una información completa acerca de la susceptibilidad de la población blanco al químico que se desee aplicar, elaborar estrategias para el manejo de la resistencia e identificar el momento oportuno para rotar los insecticidas con el objetivo de conservar la susceptibilidad de dicha sub-población.

Palabras claves:

ABSTRACT

We analyzed the resistance to insecticides temephos, malathion and deltamethrin in 4 sub-populations of *Aedes aegypti* in Venezuela during 2008 and 2010 following the WHO protocol (1981) and the methodology Brogdon and McAllister (1998) impregnated bottles, well as enzymatic resistance mechanisms and *kdr* mutation. Sub-populations Pampanito (PTO), Tres Esquinas (TE), Lara and Ureña were evaluated in this study showed low resistance to temephos ($FR_{CL50} < 5$) in both periods of research with over-expressed levels of β -esterases in the sub-population Lara and TE for 2008 and 2010 and MFO in PTO 2008, which were not associated with low resistance encountered because they did not meet the three criteria proposed in this study to enzymes associated with resistance. All sub-populations showed low resistance to malathion in 2008 and 2010 with FR_{CL50} values < 5 and over-expression of alpha-esterases whose role in the metabolism of organophosphorus could not figure out in this study. Low knockdown resistance to deltamethrin was observed in the sub-population PTO (FR_{CK50} 4.9) and moderate resistance in the sub-populations TE, Lara and Ureña with values FR_{CK50} between 5 and 10 for 2008. The values CK_{50} for 2010 were significantly increased in all sub-populations, but only Ureña sub-population showed high knockdown resistance, associating this resistance with the presence of the mutation Ile1016 in the sodium channel whose frequencies ranged 0.01 and 0.37. Post-recovery moderate resistance to deltamethrin in 2008 was observed in most of the sub-populations, which evolved in 2010 recorded 9.3 FR_{CL50} values in PTO and the rest of the sub-populations values >10 , corresponding to a high resistance to pyrethroid post-recovery which was not associated with over-expressed levels of GST and MFO.

The results show that the resistance is dynamic in time and space, so it should be periodic evaluations of bioassays including determining susceptibility and resistance mechanisms associated with insecticide to get complete information about the susceptibility of the population white to implement desired chemical, develop strategies for resistance management and identify the right time to rotate insecticides in order to preserve the susceptibility of this sub-population.

Key Words:

Distribución espacial y temporal de los vectores de Malaria y su relación con variables ambientales en el municipio Sifontes del estado Bolívar, Venezuela

(Spatial and temporal distribution of Malaria vectors and its relation to environmental variables in the municipality Sifontes, Bolívar state, Venezuela)

Autor: Jorge E. Moreno

Tutora: Yasmin Rubio

Universidad Central de Venezuela.

RESUMEN

El municipio Sifontes del estado Bolívar es la principal área endémica a malaria de Venezuela. Durante los últimos siete años se ha reportado un promedio anual de 17.582 casos, alcanzándose la cifra de 28.143 en 2011, representando 72% de la malaria originada en el estado, lo que constituye una situación de epidemia. Esta situación se deriva de la problemática social combinada con los problemas técnicos y administrativos del programa de control. Por otro lado, la influencia del clima, agravada por el efecto del cambio climático global, tiene un profundo impacto sobre la morbilidad malarica al afectar los patrones de distribución espacial y temporal de los vectores. Con la finalidad de describir la distribución espacial y temporal de los vectores de malaria y su relación con las variables ambientales en el municipio Sifontes del estado Bolívar, se realizó un estudio en tres etapas. En la primera se hizo un análisis retrospectivo de la relación entre el clima y la malaria en el municipio en la búsqueda de un modelo que explique la relación, en la segunda se hizo un estudio prospectivo de las fluctuaciones poblacionales de larvas de anofelinos y su relación

con variables climáticas y ambientales en el micro-habitat, y en la tercera se construyeron mapas de distribución espacial de anofelinos relacionándolos con la vegetación y uso de la tierra. De la interpretación de estos tres aspectos se concluyó que los factores sociales, climáticos y ambientales juegan un papel determinante en las variaciones temporales y espaciales de las poblaciones de los anofelinos vectores de malaria en el municipio.

Palabras clave: Malaria, vectores de malaria, clima-malaria, distribución espacial.

ABSTRACT

The municipality of Sifontes of Bolívar state is the main malaria endemic area in Venezuela. During last seven years an annual average of 17,582 cases has been reported in this area, reaching the top number of 28,143 cases in 2011, representing 72% of malaria in state, which constitutes an epidemic situation. This picture is derived from social problematic combined with technical and administrative problems of malaria control program. Moreover, the climate influence aggrieved for global climate change, to have a strong impact over malaria morbidity affecting spatial and temporal distributions pattern of malaria and vectors. In order to describe the spatial and temporal distributions of malaria vectors and its relationships with environmental variables in the Sifontes municipality, the following three phases study was carried out. In first phase, retrospective analysis on climate-malaria relationships was conducted in order to looking for a model to explain such relation, in the second a prospective study on anopheline larvae population fluctuation and its relationships with climatic and environmental variables in the microhabitat was realized. In third phase, maps over anophelines spatial distributions and land cover were building, and linking these with vegetation and land use. Starting from interpretation of these three aspects was concluded that social factors, climatic and environmental play a determinant role on temporal and spatial variations of malaria vectors anopheline populations in the municipality.

Key words: Malaria, malaria vectors, climate-malaria relationships, spacial distribution.

Fenotipos de susceptibilidad a antibióticos y perfil de bandas plasmídicas en cepas de Enterococcus spp. aisladas de quesos

de la Costa Oriental del Lago del Estado Zulia.

(Phenotypes of susceptibility to antibiotics and profile of plasmid in strains of *Enterococcus* spp. isolated of cheeses from the East Coast of Lake Zulia State)

Autora: Georgelin del C. Espinoza M

Tutora: Lorena Atencio de Guíñez y Cotutora: Velina Aranaga .

Universidad del Zulia.

RESUMEN

Los enterococos son bacterias oportunistas que han desarrollado multiresistencia a antimicrobianos. Con el objetivo de determinar los fenotipos de susceptibilidad a antibióticos y perfil de bandas plasmídicas en cepas de *Enterococcus* spp. aisladas de quesos de la Costa Oriental del Lago del estado Zulia, se aislaron e identificaron 130 cepas de *Enterococcus* spp. de 7 muestras de quesos. Los estudios de susceptibilidad antimicrobiana se realizaron a 36 de los aislamientos según el método de difusión por disco de Kyrby-Baüer y las recomendaciones de CLSI 2011; se realizó perfil plasmídico por el método de lisis alcalina y electroforesis en geles de agarosa. Se evaluó la calidad bacteriológica de los quesos, por medio del recuento de aerobios mesófilos y número más probable de coliformes totales (CT) y fecales (CF) según las Normas Covenin 1104-96 y 902-87. Las especies aisladas fueron *E. faecalis*, *E. gallinarum* y *E. faecium*, y en menor frecuencia *E. raffinosus*, *E. casseliflavus* y *E. hirae*. Se determinaron 22 patrones de resistencia distintos, siendo los más comunes: TE^RRA^I , $P^RTE^RRA^R$ y $P^RE^ICIP^RA^R$, para un 8,33%. El 78% de las cepas presentaron multiresistencia, siendo la tetraciclina, rifampicina y penicilina los antibióticos con valores más elevados de resistencia, 52,77%, 41,66% y 22,22%, respectivamente. Las cepas fueron 100% sensibles a la vancomicina, teicoplanina, gentamicina de alta carga y cloranfenicol. Sólo el 5,55% de los aislamientos fue productor de betalactamasas. El perfil plasmídico arrojó bandas en el 97,22% de las cepas, con tamaños que oscilaron entre 767,54 y 23130 pb, encontrándose cepas con 1, 3 y 4 bandas plasmídicas. Todas las muestras presentaron conteos elevados de aerobios mesófilos, CT y CF que indican la poca calidad sanitaria del producto. Este es el primer aporte de resistencia a antibióticos y perfil plasmídico en cepas de *Enterococcus* aisladas de quesos de la Costa Oriental del Lago.

Palabras clave: *Enterococcus* spp., plásmidos, quesos, resistencia a antibióticos

ABSTRACT

Enterococci are opportunistic bacteria that have developed multidrug resistance to antimicrobial agents. In order to determine the phenotypes of antibiotic susceptibility and plasmid profile bands in strains of *Enterococcus* spp. isolated from cheeses from the East Coast of Lake of Zulia state, were isolated and identified 130 strains of *Enterococcus* spp. 7 samples of cheeses. Antimicrobial susceptibility studies were performed at 36 of the isolates according to disk diffusion method of Kyrby-Baüer and recommendations of CLSI 2011; plasmid profile was performed by the method of alkaline lysis and agarose gel electrophoresis. We evaluated the bacteriological quality of the cheese, using the total plate count and most probable number of total coliform (TC) and fecal (FC) as Covenin Standards 1104-96 and 902-87. The isolated species were *E. faecalis*, *E. gallinarum* and *E. faecium*, and less frequently *E. raffinosus*, *E. casseliflavus* and *E. hirae*. Identified 22 different resistance patterns, the most common TE^RRA^I , $P^RTE^RRA^R$ and $P^RE^ICIP^RA^R$ to 8.33%. 78% of the strains showed multidrug resistance, with tetracycline, rifampicin and penicillin antibiotics with high resistance values, 52.77%, 41.66% and 22.22% respectively. The strains were 100% susceptible to vancomycin, teicoplanin, gentamicin high level and chloramphenicol. Only 5.55% of the isolates were beta-lactamase producer. Plasmid profiles showed bands in the 97.22% of the strains, with sizes ranging from 767.54 and 23130 bp, found strains 1, 3 and 4 plasmid bands. All samples showed high counts of aerobic mesophilic, TC and FC to indicate the lack of sanitary quality of the product. This is the first contribution of antibiotic resistance and plasmid profile in strains of *Enterococcus* isolated from cheeses from East Coast of Lake.

Key words: *Enterococcus* spp, plasmid, chesses, Antibiotic resistance