



## Artículos originales

Evaluación de mutaciones kdr en *Aedes albopictus* (Skuse) en Panamá. (Datos preliminares)

Evaluation of kdr mutations in *Aedes albopictus* (Skuse) in Panama. (Preliminary data)

\*Valderrama Anayansi, \*\*Chaves Luis, \*\*Kyoko Futami.

\*Instituto Conmemorativo Gorgas. \*\*Instituto de Medicina Tropical (Neken) University of Nagasaki, Japan.

Los autores han declarado no tener conflicto de intereses.

### Palabras claves:

mutaciones, resistencia Knockdown, mecanismos de resistencia.

### Keywords:

mutations, Knockdown resistance, resistance mechanisms.

### Correspondencia a:

Anayansi Valderrama

### Correo electrónico:

avalderrama@gorgas.gob.pa

### Resumen

Los estudios sobre mecanismos de resistencia en Panamá se centran principalmente en la técnica bioquímica avalada por la Organización Mundial de la Salud. Recientemente se implementó la detección de carencias o no de mutaciones, a nivel molecular, en una población de *Aedes albopictus*, para determinar la resistencia knockdown o kdr, evaluando así la susceptibilidad y/o resistencia de los mosquitos transmisores de enfermedades a los insecticidas utilizados por Control de Vectores del MINSA.

Esta técnica resulta sumamente útil para evaluar la gestión integrada de resistencia a los insecticidas y hacer intervenciones racionales para el control de vectores, basada en las diferencias técnicas.

En esta investigación se realizó un análisis de los Loci S989, I1011, L1014, V1016 y F1534 de los canales de sodio dependientes de voltaje (VGSC), dando como resultado que los individuos no mostraron mutaciones asociadas con la resistencia kdr.

## INTRODUCCIÓN

Dengue, Chikungunya y Zika son enfermedad emergentes de alto impacto, cuya expansión esta asociada a factores socioeconómicos[1]. Sus principales transmisores son *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* y ambos tienen una amplia distribución local[2].

En Panamá, hasta el 2002 la especie predominante, en los focos de infestación, era el *Aedes aegypti*, fecha en la que se reportó por primera vez la presencia de *Aedes albopictus*, en una localidad de la 24 de diciembre, región con una alta incidencia de infestación de mosquitos[3].

Las encuestas larvianas realizadas por el Ministerio de Salud de Panamá (MINSA), demuestran la rápida expansión de *Aedes albopictus*, analizándose su dispersión a través de modelos de distribución que indican una movilización asistida por los humanos[4]. Sin embargo, a trece años de su encuentro, existen muy pocos estudios sobre

la ecología y dinámica poblacional de esta especie que tiene la misma capacidad que el *Aedes aegypti* para transmitir los virus de estas enfermedades emergentes.

Las autoridades del MINSA, desde la creación del Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (SNEM) en 1956 mantienen un exhaustivo programa para la vigilancia y control de las poblaciones de mosquitos vectores de enfermedades, con fumigaciones constantes durante la estación lluviosa y la eliminación de los criaderos. Sin embargo, los reportes de casos de dengue continúan en aumento y en los últimos dos años se le han sumado Zika y Chikungunya, sobre todo en áreas de la ciudad capital, lo que se traduce en una amenaza para la salud pública y un incremento de los costos por manejo de estas enfermedades, tanto en los hospitales públicos, como en vigilancia y control de vectores.

La aplicación de insecticidas Piretroides (Deltametrina y Ciflutrina) ha sido, hasta el momento, la única alternativa utilizada para el control de vectores y paliativo a las epidemias anuales de enfermedades producidas por estos,

R M P

2016: Volumen 36(2)

en nuestro país; y aunque se logra controlar los brotes, queda la incertidumbre de si a raíz de ello se producen mecanismos de resistencia a insecticidas en las poblaciones de mosquitos.

Se sabe que aún no han sido dilucidadas las causas por la cual los casos de dengue aumentan cada año, mientras tanto los programas de control de poblaciones de mosquitos se mantienen en alerta, por los índices de infestación y considerando que estas poblaciones no han desarrollado resistencia a los insecticidas evaluados mediante las técnicas bioquímicas[5].

En aras de proporcionar otras evidencias científicas de parámetros muy poco monitoreados en la lucha vectorial, se propuso mediante pruebas moleculares *kdr*, generar información sobre la susceptibilidad y/o resistencia a insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti*.

Se evaluó, específicamente en el segmento 6 del dominio II y III, la mutación *kdr* que es de tipo no-sinónima, que reduce la entrada del piretroide al canal de sodio dependiente de voltaje, en la membrana nerviosa y que inhibe el efecto knockdown, con la finalidad determinar si las poblaciones de mosquitos *Aedes albopictus* en Panamá, han desarrollado resistencia.

Para este fin se realizaron colectas en áreas urbanas de larvas en las provincias de Panamá y Colón, las localidades fueron Nuevo Belén-Tocumen (9° 5'17.96"N / 79° 23'34.10"O), Chepo (9° 9'52"N / 79° 5'43.37" O) ambas ubicadas en la provincia de Panamá y Arco Iris (9° 20'21.39"O / 79° 53'26.80"O) provincia de Colón, durante la estación lluviosa entre los meses de julio a septiembre del 2012.

Las larvas colectadas se colocaron en cámaras de emergencias para obtener mosquitos adultos y se observaron las escamas oscuras en el clipeo de las hembras y la única línea longitudinal de escamas plateadas en el scutum, en ambos sexos. Posteriormente fueron preservados en alcohol absoluto para su análisis.

Para la extracción del ADN se homogenizaron tres patas de cada mosquito en una mezcla de solución de extracción REExtract-N-Amp™ Tissue PCR Kit; SIGMA, St. Louis, MO, EE.UU. Para la reacción en cadena de polimerasa (PCR) se utilizó específicamente las secuencias AaSCF1 y AaSCR4 de loci S989, I1011, L1014, y V1016 en el dominio II de la VGSP.

También se utilizó AaSCF7 y AaSCR7 para la F1534 en el dominio III de la VGSP. Los volúmenes y programas de la reacción en cadena de la polimerasa PCR y secuenciación, están descritos en[6]. El análisis de las secuencias de las sustituciones de aminoácidos del loci *kdr* para cada mosquito se hicieron con MEGA 5.0.

Se seleccionaron mosquitos adultos de *Aedes albopictus* y una vez se consiguió realizar la secuencia, fue posible

identificar, del 4 loci domain II del VGSC y fragmento del siempre loci F1534 y el fragmento del dominio III del VGSC, que no existe mutaciones en el canal sodio potasio, que causan resistencia a los piretroides, a pesar de las intensas fumigaciones con Deltametrina y ciflutrina.

Comparativamente en los ensayos de susceptibilidad, se pudo determinar que tampoco hay niveles de resistencia significativos, en los adultos de *Aedes aegypti*. No obstante, sí existe una población de larvas que resultaron resistentes a pirimifos organofosforados no persistente en el ambiente que fueron ubicadas en Victoriano Lorenzo[5].

En general la resistencia a los insecticidas es una adaptación por presión selectiva que incrementa la supervivencia de las especies plagas a largo plazo. Su ocurrencia podría representar un tremendo impacto, tanto en la economía, como en la salud pública; y tomando en cuenta que países como Venezuela y Brasil, ya han reportado mutaciones en especímenes analizados, es indispensable continuar con las evaluaciones para determinar si se han producido cambios en estas especies[7,8].

## REFERENCIAS

- [1] Gubler, D. J. (2002). Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *Trends in Microbiology*, 10[2], 100-103. [http://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02288-0](http://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02288-0).
- [2] Kraemer, M. U. G., Sinka, M. E., Duda, K. A., Mylne, A. Q. N., Shearer, F. M., Barker, C. M., Hay, S. I. (2015). The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*. *eLife*, 4, 1-18. <http://doi.org/10.7554/eLife.08347>.
- [3] Cuéllar-jiménez, M. E., Velásquez-escobar, O. L., & González-obando, R. (2007). Detección de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera : Culicidae) en la ciudad de Cali , Valle del Cauca , Colombia. *Biomédica*, 27, 273-279.
- [4] Miller, M. J., & Loaiza, J. R. (2015). Geographic Expansion of the Invasive Mosquito *Aedes albopictus* across Panama Implications for Control of Dengue and Chikungunya Viruses. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9[1], 1-7. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003383>.
- [5] Cáceres, L., Rovira, J., García, A., Torres, R., & Cruz, M. D. La. (2012). Determinación de la sensibilidad a insecticidas organofosforados, carbamato y piretroides en poblaciones de *Aedes aegypti* Linnaeus, 1762 (Diptera: Culicidae) de Panamá. *Biomédica*, 33, 70-81. <http://doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.703>
- [6] Chaves, L. F., Kawashima, E., Futami, K., Minakawa, N., & Rodriguez, R. M. (2015). Lack of *kdr* mutations in a population of Asian tiger mosquitoes from Costa

- Rica. Bulletin of Insectology, 68[1], 61-63. Retrieved from <Go to ISI>://WOS:000355963700010,
- [7] González, L. Á., García, G. P., Oviedo, M., Briceño, A., & Suarez, A. E. F. (2014). Mecanismos asociados a la resistencia al derribo “kdr” a la deltametrina en *aegypti* del occidente de Venezuela. Boletín de Malariología Y Salud Ambiental, 54[1], 58-67.
- [8] Linss, J. G., Brito, L., Garcia, G., Araki, A., Bruno, R., Lima, J. B., Scaife, S. (2014). Distribution and dissemination of the Val1016Ile and Phe1534Cys Kdr mutations in *Aedes aegypti* Brazilian natural populations. Parasites & Vectors, 7[1], 25. <http://doi.org/10.1186/1756-3305-7-25>.