



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

EVALUACIÓN DE LAS MOSCAS COMO VECTORES MECÁNICOS DE  
DISEMINACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS RESISTENTES A LOS  
ANTIBIÓTICOS  
(Modalidad: Tesis de grado)

DAYANA CAROLINA DÍAZ VALDIVIEZO

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

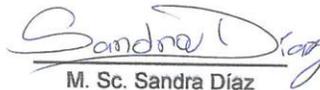
Cumaná, 2018

EVALUACIÓN DE LAS MOSCAS COMO VECTORES MECÁNICOS DE  
DISEMINACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS RESISTENTES A LOS  
ANTIBIÓTICOS

Aprobado por:



Dra. Lorena Abadía-Patiño  
Asesora



M. Sc. Sandra Díaz  
Co-Asesora



Jurado  
MSc. Dianny Martínez



Jurado

MELFRAN HERRERA

## ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTO .....	II
LISTA DE TABLAS .....	III
RESUMEN .....	IV
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	8
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	20
CONCLUSIONES .....	51
RECOMENDACIONES .....	52
BIBLIOGRAFÍA .....	53
ANEXOS .....	66
HOJA DE METADATOS .....	70

## **DEDICATORIA**

A

Dios Todopoderoso.

Mi familia, por todo el apoyo brindado.

## **AGRADECIMIENTO**

A

Dios, primeramente, que me ha conservado con vida y salud, que me dio inteligencia y me ha guiado y cuidado hasta hoy, sin él nada de esto hubiera podido cumplirse.

Profesores de la Universidad de Oriente - Núcleo de Sucre, que impartieron las materias con mucha sapiencia, para obtener el máximo de mí en la carrera.

La Dra. Lorena Abadía-Patiño, por su asesoramiento, apoyo, paciencia, atención y conocimientos transmitidos, para lograr este éxito.

La M. Sc. Sandra Díaz por su ayuda, sugerencias y cooperación.

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Cantidad de moscas aisladas utilizando diferentes cebos en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado sucre, Venezuela.....	21
2. Especímenes de moscas recolectadas en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela.....	24
3. Bacterias Gram negativas identificadas en moscas procedentes de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela....	27
4. Especies bacterianas aisladas en las moscas atrapadas en en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela .....	29
5. Antibiotipos de todas las cepas de <i>E. coli</i> aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela....	33
6. Antibiotipos de las cepas de <i>K. pneumoniae</i> aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela.....	36
7. Antibiotipos de las cepas de <i>P. mirabilis</i> aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela....	38
8. Antibiotipos de las cepas de <i>P. aeruginosa</i> aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela.....	38
9. Resumen de los métodos microbiológicos para la comparación de la producción de betalactamasas en bacterias de la microbiota de moscas aisladas de Cumaná y Carúpano, estado Sucre.....	40
10. Cepas de <i>E. coli</i> aisladas simultáneamente tanto en la superficie como en el intestino de las moscas atrapadas en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela.....	45
11. Cepas de <i>K. pneumoniae</i> aisladas simultáneamente tanto en la superficie como en el intestino de las moscas atrapadas en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela.....	47

## RESUMEN

El propósito de este trabajo fue evaluar las moscas como vectores mecánicos de diseminación de bacterias Gram negativas resistentes a los antibióticos. Para ello, se colocaron trampas caseras con varios tipos de cebos para atrapar moscas en diferentes casas tanto en Cumaná como en Carúpano, estado sucre, durante los meses febrero a mayo de 2015. El cebo más atrayente fueron las vísceras de pescado en ambas ciudades. Las moscas aisladas en Cumaná fueron *Chrysomya albiceps*, *Lucilia cuprina*, *Sarcophaga* sp1 y *Musca domestica*. Mientras que en Carúpano se aislaron esas y además *Chrysomya rufifacies*, *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* y *Sarcophaga* sp2. Las bacterias Gram negativas que portaban las moscas fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Algunas cepas bacterianas fueron resistentes a betalactámicos por la producción de betalactamasas (BLEE, carbapenemasas y AmpC), susceptibilidad disminuida a Fluoroquinolonas y alto nivel de resistencia a cloranfenicol. Cuando se hizo la búsqueda de serino-carbapenemasas por métodos microbiológicos, se pudo determinar que la prueba de Hodge modificada fue negativa para todas las cepas probadas. Se demostró poca clonalidad por antibiotipificación de las cepas de *E. coli* aisladas de las moscas. En conclusión, la mayoría de las cepas de enterobacterias provenientes de las moscas poseen mecanismos de resistencia a los antibióticos de uso clínico humano (betalactámicos, fenicoles y quinolonas), imposibilitando su uso en caso de infecciones graves. Las cepas de *P. aeruginosa* tienen resistencia a todos los antibióticos probados.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, se ha reportado un grave y alarmante problema de salud pública en toda la población en la que se encuentran involucrados grupos de seres vivos conocidos como vectores mecánicos (Muñoz y Rodríguez, 2015). Estos, facilitan la difusión de patógenos productores de enfermedades en los humanos y en los animales en condiciones naturales, al transportarlos tanto en su interior, como en su exterior (Moissant *et al.*, 2004).

Entre los vectores mecánicos se encuentran las moscas (Insecta: Diptera) y a pesar que en el mundo existen muchas especies, es más fácil observarlos en las que viven en contacto cercano con el hombre, debido a la sinantropía existente entre ambos. Las razones para esta coexistencia en la biocenosis artificial humana son claras: las etapas inmaduras del ciclo de vida del insecto se desarrollan en materia orgánica en proceso de fermentación (basura, heces, carroña o drenajes) y los adultos se alimentan de las mismas fuentes, todas comúnmente presentes en los asentamientos humanos. Estos hábitos, aunados a que las moscas presentan un comportamiento endofílico, alternación constante entre heces-comida y una gran capacidad de vuelo y dispersión, les confiere la capacidad de funcionar como potenciales vectores mecánicos de organismos patógenos (Muñoz y Rodríguez, 2015).

Existen tres formas en las cuales las moscas pueden transmitir patógenos: i) a través de su superficie corporal (patas, partes bucales), ya que están cubiertas de espinas y cerdas en las cuales el material contaminado puede ser atrapado y transportado; ii) por regurgitación de comida como preludio al alimentarse, ya que es común que una pequeña gota de la comida más reciente sea regurgitada sobre el substrato y esta pueda ser una ruta importante de infección; iii) por ingestión y defecación de patógenos como una de las vías más

importantes, ya que el agente infeccioso es protegido mientras se encuentra en el aparato digestivo del insecto en donde además encuentran las condiciones que propiciarían su multiplicación (Béjar *et al.*, 2006).

Actualmente se ha reportado la existencia de, aproximadamente, 350 especies de moscas de 29 familias de dípteros que se encuentran asociadas con la transmisión mecánica o fosis de agentes infecciosos, incluyendo bacterias, virus, protozoarios y helmintos (Lastra *et al.*, 2014). El problema principal lo constituyen las bacterias por su capacidad de reproducirse sobre el alimento y de producir toxinas que enferman a las personas que lo consumen (Palomino y González, 2014).

Las bacterias son organismos unicelulares procariotas cuyo tamaño oscila entre 1-10  $\mu\text{m}$ , adaptados a vivir en distintos ambientes (seres humanos, animales, alimentos y superficies). Muchas bacterias no son nocivas, de hecho, algunas son efectivamente beneficiosas ya que forman parte de la microbiota del intestino (coliforme) y de otros órganos del ser humano. Sólo una pequeña parte de miles de especies de bacterias causan enfermedades humanas conocidas, que cuando se producen son tratadas con antibióticos; pero el abuso de estos compuestos en los últimos años ha favorecido el desarrollo de cepas de bacterias resistentes a su acción (Guarner, 2007).

Hay diversos mecanismos por los cuales las bacterias son resistentes a los antibióticos, entre los más relevantes se encuentran: disminución de la permeabilidad de la membrana celular, lo cual dificulta el ingreso del antibiótico a las células bacterianas; alteración del sitio de acción del antibiótico, con la consecuente pérdida de afinidad de este por su sitio de acción; sistema de bombas de eflujo, que consiste en la expulsión del antibiótico por parte de la bacteria; y la modificación o inactivación del antibiótico por enzimas, entre las que se encuentran las betalactamasas, siendo esta última, la forma más común

de resistencia adquirida (Burke, 2000; Bradford, 2001).

La producción de betalactamasas es el principal mecanismo de resistencia bacteriana a los antibióticos betalactámicos, está constituido por un complejo grupo de enzimas con propiedades diferenciales en función del sustrato que hidrolizan o inhiben (parámetros cinéticos), su localización (intra o extracelular), codificación (cromosómica o extracromosómica), expresión genética (constitutiva o inducible) y otras propiedades físico-químicas utilizadas para clasificarlas. Actúan hidrolizando el enlace amídico del anillo betalactámico, previa unión al grupo carboxilo, provocando que el antibiótico pierda la capacidad de unirse a las proteínas ligadoras de penicilina (Burke, 2000; Bradford, 2001).

En los últimos años, ha sido especialmente relevante la resistencia antimicrobiana mediada por betalactamasas. Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas capaces de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y monobactámicos, pero no a cefamicina ni carbapenémicos (imipenem, meropenem y ertapenem), siendo estas inhibidas por el ácido clavulámico. Estas betalactamasas pertenecen a la clase molecular A de Ambler y entre ellas se derivan enzimas tipo TEM y SHV, principalmente (descritas también de CTX, PER, OXA). Se localizan en plásmidos y son transferibles de cepa a cepa entre especies bacterianas (Roschanski *et al.*, 2017).

Las AmpC constituyen otro tipo de betalactamasas perteneciente a la clase molecular C de Ambler (grupo 1 de la clasificación de Bush-Jacoby-Medeiros) que, a diferencia de las BLEE, no poseen en la actualidad un método estandarizado por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI, siglas en inglés), para su detección fenotípica. Las betalactamasas tipo AmpC hidrolizan cefalosporinas de primera y segunda generación, incluidas las

cefamicinas y, en menor medida, cefalosporinas de tercera generación, mientras que generalmente son muy poco eficaces hidrolizando los carbapenémicos y cefalosporinas de cuarta generación. Este espectro de hidrólisis puede ampliarse y afectar además a cefalosporinas de cuarta generación (AmpC de espectro extendido), pero se desconoce cuál es la prevalencia y la relevancia clínica y epidemiológica de esta variante de AmpC. Cloxacilina y aztreonam, así como el ácido borónico y sus derivados (ácido fenil-borónico), inhiben a las betalactamasas tipo AmpC, mientras que el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam no son buenos inhibidores (Roschanski *et al.*, 2017).

En los últimos años, se ha producido una gran alarma y preocupación por la gran dispersión de los bacilos Gram negativos resistentes a los carbapenémicos por producción de betalactamasas capaces de hidrolizar este grupo de antibióticos y que se han asociado a elementos genéticos transferibles. Estas enzimas se denominan genéricamente carbapenemasas y se agrupan en diferentes clases moleculares de Ambler que se corresponden con diferentes grupos funcionales de la clasificación de Bush y Jacoby (Abdallah *et al.*, 2015).

El grupo más importante de carbapenemasas lo constituye las metalo-betalactamasas pertenecientes a la clase B o grupo 3 de Bush y Jacoby. Las enzimas principales son las IMP y VIM que tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los antibióticos betalactámicos con la excepción de aztreonam y no se inhiben por el ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam. Sin embargo, se inhiben por los agentes quelantes de cationes divalentes como el EDTA, compuestos tiólicos, como el ácido 2-mercaptopropiónico o el ácido dipicolínico (Abdallah *et al.*, 2015).

Otro grupo importante de carbapenemasas son la de clase A (grupo 2f). Estas enzimas, cuyo primer representante fue la betalactamasa SME, confieren un

fenotipo con pérdida marcada de la sensibilidad a los carbapenémicos y un perfil hidrolítico que incluye el aztreonam y, en menor medida, a cefalosporinas de tercera y cuarta generación, no son inhibidas por el EDTA, pero como peculiaridad destaca la inhibición parcial por ácido clavulánico (mejor con tazobactam). No obstante, dentro de las carbapenemasas de clase A, las que tienen mayor importancia epidemiológica son las denominadas *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasas (KPC). Son de naturaleza plasmídica asociadas al transposón Tn4401. Desde un punto de vista fenotípico, las enzimas KPC hidrolizan de forma eficiente penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos. Con excepción tendría una menor tasa de hidrólisis de las cefamicinas (Abdallah *et al.*, 2015).

En el grupo de las OXA (clase D de Ambler y 2df de Bush y Jacoby) también se encuentran variantes que hidrolizan los carbapenémicos. Entre ellas destacan las variantes descritas en *Acinetobacter* spp., de los sub-grupos OXA-23, OXA-24, OXA 58 OXA143 y, en menor medida OXA 51. Y sobre todo OXA-48 descrita en enterobacterias en países del entorno mediterráneo. La detección fenotípica de OXA-48 es compleja ya que la hidrólisis de los carbapenémicos es poco eficiente y prácticamente inexistente para cefalosporinas de tercera y cuarta generación. El perfil de sensibilidad que confieren mantiene las características generales de las OXA al ser poco inhibidas por el ácido clavulánico (Roschanski *et al.*, 2017).

En bacterias Gram negativas, la transmisibilidad de los factores de resistencia puede dar lugar a un problema aún mayor: la multirresistencia. Estos microorganismos no solamente son resistentes a una serie de drogas, sino que esa multirresistencia sigue siendo transferible, por lo que se transforman en reservorios de resistencia. Los bacilos Gram negativos han desarrollado una gran variedad de mecanismos de resistencia bacteriana que no son más que el resultado de la adquisición de mutaciones en genes cromosómicos

naturalmente intrínsecos de la bacteria, y/o genes extracromosómicos que son adquiridos a través de intercambio genético con otras bacterias (Burke, 2000; Bradford, 2001).

En 1950 fue descrita la primera bacteria resistente después de la introducción de antibióticos comerciales (Moreno *et al.*, 2000). La preocupación por el incremento de las bacterias resistentes a los antibióticos ha aumentado considerablemente y ha sido objeto de estudio en diferentes partes del mundo, debido a que muchas enfermedades han dejado de responder a los antibióticos de uso común (OMS, 2005), tanto por su uso excesivo como por la falta de nuevos agentes en el mercado (Singer *et al.*, 2003). En este sentido, la resistencia a antibióticos ha sido definida como una pandemia global, una de las mayores amenazas para la salud pública, uno de los principales desafíos sanitarios del siglo XXI, una potencial catástrofe mundial, y uno de los principales problemas de los sistemas de salud en Europa (Falcón *et al.*, 2010).

En Venezuela, se está vigilando la resistencia bacteriana desde el año 1987, cuando se creó el Programa Venezolano de Vigilancia de Resistencia Bacteriana a los Antimicrobianos (PROVENRA), en el cual actualmente participan 46 laboratorios de microbiología públicos y privados del país. Este programa forma parte de un Sistema Internacional de Vigilancia de la Resistencia, que depende de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el que participan 53 países del mundo (Comegna *et al.*, 2000). Los programas nacionales e internacionales de monitoreo de resistencia antimicrobiana han confirmado un aumento de esta resistencia entre varios patógenos Gram positivos y Gram negativos durante los últimos años (Benavides *et al.*, 2005).

De acuerdo a estudios realizados en Maracay, Venezuela y en Lima, Perú, a partir de moscas presentes en basurales, se registró que los dípteros presentaban una carga microbiana: parásitos (28%), hongos (14%) y bacterias

(58%). La tasa de infección bacteriana observada en este estudio fue muy alta, debido a las pobres condiciones sanitarias (Béjar *et al.*, 2006).

En países como Venezuela y más aun en el estado Sucre, se dispone de escasos estudios sobre los patrones de resistencia antimicrobiana de bacilos Gram negativos, debido a la poca disponibilidad de recursos económicos para llevar a cabo los procedimientos operativos que se requieren, así como la falta de coordinación de las instituciones del área de salud que tienen a su cargo la responsabilidad de realizar periódicamente el diagnóstico y monitoreo microbiológico. Ante ello, el presente trabajo consistió en evaluar las moscas como vectores mecánicos de diseminación de bacterias Gram negativas resistentes a los antibióticos, con la finalidad de establecer mecanismos eficientes de intervención que permitan la aplicación de medidas preventivas y correctivas encaminadas a la disminución de los factores de riesgo que inciden en la distribución y la frecuencia de dichas bacterias

## METODOLOGÍA

### **Muestra**

Se recolectaron moscas en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, durante un lapso de 3 meses (febrero a mayo 2015). Se colocaron trampas en el patio de las casas de la comunidad la Llanada en Cumaná y en los alrededores del Ambulatorio Juan Otaola Rogliani y el cementerio central de Carúpano. Los ejemplares de las moscas capturados fueron trasladados al Laboratorio de Control Biológico para la identificación taxonómica de los distintos dípteros y, posteriormente, fueron llevados al Laboratorio de Resistencia Bacteriana, para identificación taxonómica de las diferentes especies bacterianas, ambos ubicados en el Instituto de Investigación en Biomedicina y Ciencias Aplicadas de la Universidad de Oriente (IIBCAUDO) en Cumaná, estado Sucre.

### **Captura de moscas**

Se recolectaron todas las moscas sin importar los ambientes de donde provenían (excretas, alimentos y/o basura). Fueron capturadas con trampas artesanales de botellas de plástico en sitios estratégicos, con diferentes cebos (carne, víscera de pescado, fruta y desechos vegetales) en descomposición en su interior, previamente protegidos con una malla. En la abertura de los envases se adaptaron embudos de plástico lavados con agua y desinfectados con alcohol isopropílico al 70%, en forma de conos invertidos, para facilitar la entrada de las moscas, pero no la salida (Béjar *et al.*, 2006).

Las moscas se recolectaron de forma individual, efectuando una captura por ambiente, entre las 8:00 am y las 12:00 m. Las mismas fueron dormidas con cloroformo y separadas en tubos Eppendorf de 1.5 ml, luego fueron congeladas a una temperatura de -20°C y transportadas en una cava con una compresa frío

pack al laboratorio de Control Biológico para la identificación taxonómica de los distintos géneros y especies de dípteros, seguidamente fueron trasladadas al Laboratorio de Resistencia Bacteriana del IIBCAUDO para la identificación bacteriana y ejecución del resto de los objetivos (Muñoz y Rodríguez, 2015).

### **Identificación de las especies de moscas**

Para la cuantificación e identificación taxonómica de las moscas recolectadas se utilizó la clave dicotómica ilustrada de Barros y Antunes (2008). La identificación se llevó a cabo en el Laboratorio de Control Biológico del IIBCAUDO.

### **Identificación de bacterias Gram negativas de la superficie y del intestino de las moscas**

Moscas enteras

Los tubos de ensayos fueron previamente esterilizados en la estufa a 170°C durante 30 minutos. En cada tubo se colocó 1 ml de caldo Infusión de Cerebro Corazón (BHI, por sus siglas en inglés) por cada mosca entera, seguidamente los tubos fueron colocados en baño de María a 35°C durante 18 horas en movimientos de agitación. Luego, con la ayuda de un asa bacteriológica, se tomaron inóculos del sobrenadante de cada tubo y se sembraron por estría en medios de cultivo: Agar Mac Conkey, Eosina Azul de Metileno (EMB)-Levine y Cetrimida, seguidamente se procedió a dejar incubar a 35°C durante 18 horas. A continuación, de cada colonia desarrollada en las placas de los distintos medios de cultivo se anotaron las características morfológicas, como tamaño, forma, aspecto, color, olor y producción de pigmento, características que orientaron hacia los géneros en estudio y se procedió a purificar por separado cada colonia desarrollada (Béjar *et al.*, 2006).

Para la purificación de las colonias desarrolladas, se agregó en cada tubo 1 ml de caldo de BHI por cada colonia, las mismas fueron tomadas con la ayuda de

palillos de maderas previamente estériles e introducidas en cada tubo por separado. Se procedió a colocar los tubos en baño de María durante 5 horas bajo agitación para favorecer su crecimiento bacteriano. Posteriormente, se sembró por estría en el medio de cultivo agar nutritivo y se dejaron incubar a 35°C durante 18 horas. De las colonias desarrolladas totalmente puras se anotaron las características morfológicas, como tamaño, forma, aspecto, color, olor y producción de pigmento y fueron guardadas en viales de caldo BHI más glicerol al 20% a – 20°C (Béjar *et al.*, 2006).

#### Macerado de moscas

Una vez recuperadas las bacterias de las superficies de las moscas, se procedió a lavar cada mosca de forma individual de la siguiente manera: se le añadió etanol al 70% durante 30 segundos, seguidamente se agrego agua destilada estéril durante 20 segundos con triple repetición y se procedió a añadir la solución NaCl al 0.9%, dejándola actuar durante 60 segundos y nuevamente se le agregó agua destilada estéril durante 20 segundos con triple repetición.

Una vez lavadas las moscas se colocaron de manera individual, con la ayuda de una pinza bacteriológica, dentro un mortero previamente esterilizado, se añadió 1 ml de caldo BHI y se procedió con el mazo de porcelana a macerar las moscas. Luego el macerado se trasvasó a un tubo estéril para ser incubado en baño de María a 35°C durante 18 horas con agitación; se procedió a inocular por estría en placas de agar Mac Conkey, EMB y cetrimida, Las placas fueron incubadas a 35°C durante 18 horas. Por último, a cada una de las colonias desarrolladas se les anotaron sus características morfológicas y se procedió a purificar cada colonia por separado en caldo de BHI como se describió anteriormente (Béjar *et al.*, 2006).

#### **Identificación bioquímica de bacterias Gram negativas**

Las pruebas bioquímicas generales de la oxidasa y fermentación de la lactosa fueron realizadas según esquemas propuestos por Koneman *et al.*, 2008 y MacFaddin, 2003. Posterior a las pruebas bioquímicas generales se le aplicó una galería API 20E, que permite la identificación de microorganismos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y otras bacterias Gram negativas; y el sistema API 20 NE, que permite la identificación de bacilos Gram negativos no pertenecientes al grupo de enterobacterias tales como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio* y *Aeromonas* (Biomériux, 2010).

#### Pruebas bioquímicas

##### Oxidasa

Esta prueba demuestra si la bacteria en estudio es productora de la enzima citocromo oxidasa. En presencia de oxígeno producen un compuesto de color intenso denominado azul de indofenol debido a la oxidación del tetrametil-*p*-fenilendiamina (TMFD). Las enterobacterias se distinguen por una reacción negativa al realizar esta prueba (MacFaddin, 2003).

##### Fermentación de la lactosa

Se basa en la capacidad de las bacterias Gran negativas de crecer en presencia de las sales biliares, cristal violeta y de utilizar la lactosa como fuente de carbono.

Consiste en sembrar por estría en la superficie de la placa del agar Mac Conkey e incubar a 35°C durante 18 a 24 horas. Aquellas bacterias capaces de fermentar la lactosa acidificaron el medio, provocaron cambio del indicador de color rojo neutro y formaron colonias rojas o rosadas (lactosa positiva), pudiendo presentar un halo turbio correspondiente al precipitado biliar. Las bacterias lactosa-negativas dieron colonias incoloras (Koneman *et al.*, 2008).

## Galería API 20E Y API 20NE

Está constituida por 20 microtubos que contienen sustrato deshidratado en diferentes medios de cultivo deshidratados que permiten la identificación de las bacterias a través de una serie de reacciones entre las que destacan:

### Fermentación de la glucosa

Consiste en inocular la suspensión bacteriana de la cepa a estudiar en los tubos de las galerías; seguidamente se dejó incubar a 35°C durante 24 horas. Aquellos microorganismos que, debido a la baja concentración de glucosa, empiecen a usar las peptonas del medio como nutrientes de desarrollo, se evidenciaron de un color rojo indicativo de una reacción positiva; sin embargo, se puede producir un color amarillo (reacción negativa) debido a la degradación anaerobia de la glucosa que forma productos finales (MacFaddin, 2003).

### Reducción del nitrato a nitrito

Determina la capacidad de un organismo de reducir el nitrato en nitrito y a nitrógeno gaseoso (N<sub>2</sub>). Esta prueba consistió en inocular la suspensión bacteriana de la cepa a estudiar en los tubos de la galería con ayuda de una pipeta para evitar la formación de burbujas, seguidamente se dejó incubar a 35°C durante 24 horas, luego se agregó 1 gota de la solución A del reactivo de Griess y 1 gota de la solución B del reactivo de Griess.

El desarrollo de un color rojo indica prueba positiva por la presencia de nitritos y que la bacteria posee nitrorreductasa para la reducción total de nitrato hasta nitrógeno gaseoso (desnitrificación). Si al añadir zinc en polvo al medio anterior no aparece color rojo es que no queda nitrato porque se ha reducido a gas (Forbes *et al.*, 2009).

### Hidrólisis de la arginina

Demuestra si las bacterias en estudio son capaces de hidrolizar el aminoácido

arginina a través del sistema arginina dihidrolasa. Consiste en inocular la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar en los tubos de las galerías e inmediatamente sellar con aceite de parafina la cúpula para crear una atmósfera anaerobia, seguidamente se dejó incubar a 35°C durante 24 horas. La positividad de la prueba se evidenció con el color purpura en el medio y la negatividad con el color amarillo (Koneman *et al.*, 2008).

#### Descarboxilación de lisina

Determina la capacidad enzimática de las bacterias para descarboxilar la lisina y originar una amina. Consistió en inocular la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar en los tubos de las galerías, posteriormente se debe sellar con aceite de parafina la cúpula para crear una atmósfera anaerobia y se dejó incubar a 35°C durante 24 horas. La prueba se evidenció positiva por la coloración rojo-anaranjado, en cambio la negatividad se observó de color amarillo (Koneman *et al.*, 2008).

#### Descarboxilación de la ornitina

Determina la capacidad enzimática de un microorganismo para descarboxilar ornitina y formar una amina. Esta prueba consistió en inocular la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar en los tubos de las galerías y posteriormente sellar con aceite de parafina la cúpula para crear una atmósfera anaerobia, luego se dejó incubar a 35°C durante 24 horas. La prueba se evidenció como positiva al formar una coloración rojo-anaranjado, en cambio la negatividad de la prueba se observó de color amarillo (Koneman *et al.*, 2008).

#### Hidrólisis de la gelatina

Esta prueba se basa en la producción de la enzima gelatinasa (GEL), por parte de la bacteria, la cual hidroliza la gelatina. Para llevar a cabo esta prueba se inocularon los tubos y las cúpulas de las galerías con la suspensión bacteriana de la cepa a estudiar y se dejó incubar a 35°C durante 24 horas. La prueba se

evidenció como positiva al formar una difusión de pigmento, en cambio de no observarse la difusión fue negativa (Forbes *et al.*, 2009).

#### Hidrólisis de urea

Permite determinar la capacidad bacteriana de hidrolizar la urea en dos moléculas de amonio por la acción de la ureasa. Esta prueba consistió en inocular la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar en los tubos de las galerías, seguidamente se sellaron con aceite de parafina las cúpulas para crear una atmósfera anaerobia, luego se procedió a dejar incubar a 35°C durante 24 horas. La prueba se evidenció como positiva por coloración rojo-anaranjado, en cambio, una negatividad se observó de color amarillo (Koneman *et al.*, 2008).

#### Hidrólisis esculina

Está basada en la capacidad de ciertas bacterias de hidrolizar la esculina, que es químicamente un derivado de la cumarina, por su estructura pertenecientes a los glucósidos. Esta prueba consistió en inocular la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar en los tubos de las galerías con ayuda de una pipeta para evitar la formación de burbujas, seguidamente se dejó incubar a 35°C durante 24 horas, la positividad de la prueba se evidenció por la formación de un complejo marrón oscuro, en cambio, una reacción negativa se observó por la formación de un complejo amarillo (Prescott, 2004).

#### $\beta$ -Galactosidasa

Esta prueba demuestra la presencia de la enzima  $\beta$ -galactosidasa (ONPG) en algunos microorganismos. Hay bacterias que a pesar de poseer enzimas hidrolizantes de la lactosa ( $\beta$ -galactosidasas) no pueden actuar sobre esta porque les faltan las enzimas extracelulares apropiadas (permeasas). A estas bacterias se les denomina mutantes crípticos (Koneman *et al.*, 2008). Esta prueba consistió en inocular la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar

en los tubos de las galerías con ayuda de una pipeta, para evitar la formación de burbujas, seguidamente se dejó incubar a 35°C durante 24 horas, Si la bacteria posee las enzimas hidrolizantes ( $\beta$ -galactosidasa), el compuesto se transforma en ortonitrofenol, un derivado cromogénico de color amarillo (positivo). Una reacción incolora se consideró ausencia de la enzima  $\beta$ -galactosidasa obteniendo un resultado negativo (Forbes *et al.*, 2009).

#### Producción de H<sub>2</sub>S

Se basa en la actividad de las bacterias al determinar si se ha liberado enzimáticamente ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S) gaseoso a partir de los aminoácidos producidos por la proteólisis de las proteínas. Esta prueba consistió en inocular la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar en los tubos de las galerías, luego se sellaron las cúpulas con aceite de parafina para crear una atmósfera anaerobia. Seguidamente se dejó incubar a 35°C durante 24 horas. De observarse un color café oscuro la reacción fue positiva, en cambio una reacción negativa se observó por la ausencia del precipitado (Rodríguez *et al.*, 2005).

#### Producción de acetoína (Voges-Proskauer)

Determina la capacidad de un microorganismo de producir un producto final neutro, el acetilmetilcarbinol (acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa (Koneman *et al.*, 2008). Se inocularon los tubos y las cúpulas de las galerías con la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar durante 35°C durante 24 horas. Seguidamente, se le añadió un primer reactivo que es un catalizador  $\alpha$ -naftol, este actúa como intensificador del color, lo que incrementa la sensibilidad de la reacción sin pérdida de la especificidad. Luego, se le añadió un segundo reactivo, KOH al 40%, el cual ayuda a la absorción de CO<sub>2</sub> en el medio. Una reacción positiva mostró un color rosado-rojo en la superficie del medio evidenciándose la presencia de acetoína, en cambio ante una reacción negativa se observó la superficie del medio incoloro (MacFaddin, 2003).

### Citrato

Evidencia la capacidad de un microorganismo para utilizar el citrato como única fuente de carbono y las sales de amonio como fuente de nitrógeno, siendo indicativo de una reacción positiva la observación de un color azul. Consistió en inocular los tubos y las cúpulas de las galerías con la suspensión bacteriana de la cepa a estudiar a 35°C durante 24 horas. En cambio, una reacción negativa se observó de color verde (Rodríguez *et al.*, 2005).

### Producción de indol

El indol es uno de los productos de la degradación del metabolismo del aminoácido triptófano. Las bacterias que poseen la enzima triptofanasa degradan el triptófano produciendo indol, ácido pirúvico y amonio. La prueba consistió en inocular los microtubos con la suspensión bacteriana de la cepa a estudiar a 35°C durante 24 horas, seguidamente se le añadió una gota de reactivo James formando un producto fucsia en la superficie, siendo una reacción positiva, en cambio un color amarillo es indicador de una reacción negativa (Koneman *et al.*, 2008).

### Oxidación de azúcares

Permite determinar el metabolismo oxidativo o fermentativo de un microorganismo sobre un determinado hidrato de carbono (glucosa, arabinosa, manitol, sorbitol, inositol, amigdalina, melobiosa, sacarosa y ramnosa). La fermentación es un proceso metabólico que no requiere O<sub>2</sub>, se caracteriza por la fosforilación inicial del hidrato de carbono (glucosa-6-fosfato) y requiere de un compuesto orgánico como aceptor final de electrones. El proceso de oxidación directa del hidrato de carbono no requiere de la fosforilación inicial del azúcar (MacFaddin, 2003). La prueba se basó en inocular los tubos con la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar a 35°C durante 24 horas. Evidenciándose un color amarillo indica una reacción positiva, en cambio un color azul o verde fue considerado una reacción negativa (Koneman *et al.*, 2008).

### Triptófano desaminasa

Es una enzima que transforma el triptófano a ácido indol pirúvico. Esta prueba consistió en inocular los tubos de las galerías con la suspensión bacteriana de las cepas a estudiar a 35°C durante 24 horas. El reactivo utilizado en la revelación de esta prueba es la solución acuosa de cloruro férrico. Si en el medio había ácido indol pirúvico, al añadirle una gota del reactivo se originaba de inmediato un color rojizo y la reacción se consideraba positiva, en cambio un color amarillo se consideraba una reacción negativa (Koneman *et al.*, 2008).

### **Determinación del perfil de susceptibilidad de bacterias Gram negativas aisladas de las moscas**

Para la realización de las pruebas de susceptibilidad se empleó el método de difusión en agar (Bauer *et al.*, 1966), según los lineamientos de Manual M100-S26 establecidos por el Instituto de Estándares para Laboratorios Clínicos (CLSI, 2016).

El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera: se inocularon de 4 a 5 colonias aisladas de la bacteria identificada en 4.5 ml de solución salina fisiológica, ajustándolo con un patrón 0.5 de la escala de MacFarland. Luego, se humedeció un hisopo de algodón estéril con la suspensión bacteriana, se diseminó sobre la superficie de la placa de agar Mueller-Hinton. Se dejó secar de 3 a 5 minutos y se colocaron los discos de los antibióticos: ampicilina (10 µg), amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg), ceftazidime (30 µg), cefepime (30 µg), cefoxitina (30 µg), imipenem (10 µg), meropenem (10 µg), amikacina (30 µg), gentamicina (10 µg), ácido nalidíxico (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), ofloxacina (5 µg) y cloranfenicol (30 µg). Las placas se incubaron a 35°C durante 18 horas en aerobiosis, al cabo de este tiempo, se procedió a realizar la lectura de los halos de inhibición. Esto permitió, dependiendo del tamaño de los halos de inhibición, clasificarlos en sensible (S), intermedio (I) y resistente (R), según las categorías establecidas por el Manual M100-S26 y hacer una lectura

antes interpretada según las características fenotípicas de los halos (CLSI, 2016).

A las cepas que presentaron resistencia a amoxicilina/ácido clavulánico, cefepime, ceftazidime, imipenem y meropenem, se les realizaron las pruebas de detección de betalactamasas tipo BLEE, betalactamasas cromosómicas inducibles clase C (AmpC) y carbapenemasas.

### **Detección de betalactamasas de tipo espectro extendido, cromosómica inducible clase C y carbapenemasas en bacterias Gram negativas aisladas en moscas**

La detección fenotípica de betalactamasas tipo BLEE se realizó por la técnica de sinergia de doble disco (Jarlier *et al.*, 1988). La producción o no de la enzima betalactamasa se observó entre los discos de amoxicilina/ácido clavulánico, cefepime y ceftazidime. Se obtuvo sinergia positiva por la presencia presuntiva de la enzima al obtener una ampliación o distorsión del halo de inhibición adyacente al disco de amoxicilina/ácido clavulánico de alguna de las cefalosporinas.

La determinación de betalactamasa tipo AmpC se detectó al observar un achatamiento del halo de inhibición entre los discos de CAZ e IMP, fenómeno originado por antagonismo entre los antibióticos (SADEBAC-AAM, 2016). La detección de carbapenemasas fue realizada por el Test de Hodge modificado, ya que este método permite inferir si las cepas poseen enzimas con actividad sobre los carbapenémicos. Se preparó una suspensión al 0.5 McFarland de *Escherichia coli* ATCC® 25922 en solución salina estéril y fue diluido 1:10; se inocularon en una placa de agar Mueller-Hinton en tres direcciones según lo indicado para el método de difusión con discos en agar. En el centro se colocó un disco de meropenem de 10 µg, luego con un hisopo estéril, se tomaron de tres a cinco colonias de las cepas en estudio y se trazó una línea desde el

borde del disco carbapenémico hasta el borde de la placa. Se inocularon a 35°C por 16 a 20 horas. Una prueba positiva se observó con la presencia de una discontinuidad del halo de inhibición, de forma similar a una flecha (CLSI, 2016). La otra prueba fenotípica para la detección de carbapenemasa fue colocar el disco EDTA al lado de un disco de imipenem y al otro lado un disco de meropenem; separados a una distancia de 1.5 cm (SADEBAC-AAM, 2016).

### **Análisis de Datos**

Los datos fueron expresados en tablas y los resultados en porcentaje.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las moscas son altamente efectivas transportando bacterias de ambientes sépticos a otros sustratos a través del cuerpo, las alas y las patas, además de la regurgitación (Moon, 2002). Estos vectores están implicados en la diseminación de enfermedades graves como oftalmia, ántrax, fiebre tifoidea, tuberculosis, cólera y diarrea infantil (Scott y Lettig, 1962; Keiding, 1986). Esto no es un hallazgo nuevo, ya que desde el siglo pasado ha sido demostrado experimentalmente (Zurek *et al.*, 2000). Las moscas domésticas y las cucarachas se han relacionado como puentes directos de diseminación de linajes clonales de bacterias multirresistentes propias de heces de animales de granjas (Zurek y Grosh, 2014).

Varios estudios han demostrado la colonización de esas bacterias y la transferencia horizontal de genes de resistencia en el tracto digestivo de los insectos (Olsen *et al.*, 2004; Petridis *et al.*, 2006; Akhtar *et al.*, 2009). El papel de las moscas domésticas en la diseminación de la cepa *E. coli* O157:H7, de reservorios animales a otros animales y humanos, fue demostrado en Japón (Moriya *et al.*, 1999).

*Musca domestica* es la especie más común de la familia Muscidae de las moscas en el mundo entero (Levine y Levine, 1991). Las moscas no migran en las estaciones ni entran en períodos de diapausa. Se refugian en graneros o en sitios de animales para mantenerse cálidas, alimentarse, desarrollarse, descansar, aparearse y colocar sus huevos (Black y Krafur, 1986). Las moscas desarrollan sus larvas en diversos sustratos como materia orgánica en descomposición (heces de humanos y animales, vegetación), basura y carroña. Cada uno de estos sustratos tiene una amplia comunidad bacteriana, la cual ayuda al desarrollo adecuado de las larvas (Zurek *et al.*, 2000).

Los resultados obtenidos durante este estudio, a partir de la captura de un total de 50 moscas, recolectadas durante los meses de febrero-mayo de 2015 en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, ambas zonas ubicadas en el nororiente de Venezuela. Se observó una similitud con los cebos de carne y pescado; en Cumaná, se capturaron igual número de moscas con los cebos de pollo y basura mientras que en Carúpano se capturaron igual número de moscas con los cebos de carne y pollo. Tanto en Cumaná como en Carúpano las trampas en las que se emplearon pescado como cebo, fueron las que más moscas atrajeron (Tabla 1).

Tabla 1. Cantidad de moscas aisladas utilizando diferentes cebos en las localidades de Cumaná y Carúpano, Estado sucre, Venezuela

	Moscas		
	Cumaná	Carúpano	Total
Carnada	N (%)	N (%)	N (%)
Pescado	10 (40)	10 (40)	20 (40)
Carne	8 (32)	7 (28)	15 (30)
Pollo	3 (12)	7 (28)	10 (20)
Basura	4 (12)	1 (4)	5 (10)
Fruta	-	-	-
Total	25 (100)	25 (100)	50 (100)

N: número de moscas, %: porcentaje

En un muestreo realizado entre los meses de febrero y julio en La Pinta del municipio de Antioquia, en Colombia, demostraron que el cebo que más moscas atrajo fue vísceras de pollo (León *et al.*; 2009), mientras que en este trabajo realizado entre febrero y mayo en las principales ciudades del estado Sucre, el mejor cebo fue el pescado en descomposición.

El tipo de cebo es importante, ya que depende de eso, el tipo de mosca atraída por la carnada. Cuando se coloca como cebo basura, carne y heces humanas, se puede atraer *Chrysomya albiceps* (Erzinclioglu y Whitcombe, 1983), pero también se logra hacerlo con heces de cabra y ovejas en granjas, o con hígado, pescado, frutas (Baumgartner y Greenber, 1985). Investigadores han planteado

que las lluvias cambian la luminosidad, así como la humedad relativa y la temperatura, lo cual disminuye la actividad del insecto en términos de postura y vuelo, lo que conlleva a reducir las capturas en campo, siendo este un factor condicionante en el comportamiento del insecto (*Ceratitis capitata* Wiedemann), (Del Pino y Garrido, 1996).

Por otro lado, cuanto más alta es la temperatura y más larga la estación con temperaturas altas, más rápido resulta el desarrollo de estos organismos y mayor el número de generaciones por año. Dado el solapamiento entre generaciones, se generan rápidamente grandes poblaciones de moscas, que se mantienen siempre y cuando, las temperaturas sigan siendo elevadas (Cañadas *et al.*, 2014).

El hacinamiento de la población humana en muchos sectores de ciudades y pueblos también beneficia enormemente a los factores ambientales para la producción de las moscas, debido al aumento en la construcción de viviendas, que han agudizado aun más el problema de salud pública por el mal almacenamiento de los desperdicios (Cañadas *et al.*, 2014).

La clasificación de las moscas capturadas en las localidades de Cumaná y Carúpano, se realizó por medio de claves dicotómicas que permitieron la identificación taxonómica de géneros y especies (Barros y Antunes, 2008). Durante el presente estudio, las familias determinadas fueron Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae. Dentro de la familia Calliphoridae se encontraron los géneros *Lucilia*, *Calliphora* y *Chrysomya*. Son moscas más o menos robustas de tamaño mediano que miden de 4 a 16 mm, generalmente tienen colores metálicos brillantes (azul, verde, bronce y negro) y la mayoría de especies de esta familia son ovíparas. Ovipositan sobre materia orgánica en descomposición, como carne, pescado, animales en descomposición, excrementos, lo cual las hace vectores de patógenos; otras incluso ovipositan

sobre animales vivos como es el caso de las especies *Lucilia sericata* y *Lucilia cuprina*, lo que da como resultado miasis (Shewell, 1987).

La familia Sarcophagidae es conocida vulgarmente como moscardas de la carne, se caracterizan por ser moscas robustas, miden de 2.5 a 18 mm. La principal característica de esta familia es la presencia de bandas longitudinales en el tórax y abdomen, y en su mayoría son de color gris y sin brillo. Los adultos son atraídos por carroña y heces, materiales que normalmente utilizan como sitios de oviposición. Sin embargo, las larvas pueden ser encontradas en una gran variedad de materiales orgánicos en descomposición (Romera *et al.*, 2003).

A diferencia de otras especies de moscas, los adultos de *Sarcophaga* son larvíparos, es decir, depositan larvas en vez de huevos. Las larvas se desarrollan en un día y después se entierran en la carne durante 7 a 10 días antes de entrar en fase pupa (Flores y Dale, 1996). Por último, la familia Muscidae es la más conocida; puede identificarse por cuatro franjas longitudinales oscuras sobre el dorso del tórax. El abdomen es de color claro en sus costados (Pérez y Wolff, 2011).

En este trabajo la especie más predominante en Cumaná, fue *M. domestica* (28%), conjuntamente con *Lucilia cuprina* (28%), mientras que, en Carúpano, las principales moscas fueron *Chrysomya rufifacies* (20%), *Lucilia sericata* y *Sarcophaga* sp2 (16% cada una) (Tabla 2, anexo 1). Ambas localidades presentaron similitudes de aparición en las especies: *Lucilia cuprina*, *Chrysomya albiceps* y *M. domestica*. En la localidad de Cumaná se recolectaron cuatro géneros, mientras que en Carúpano se recolectaron seis géneros (Tabla 2, anexo 1).

Las moscas son insectos cuya temperatura corporal varía según la del medio

ambiente (poiquiloterma), por lo que la temperatura tiene un efecto directo sobre la tasa de desarrollo, mortalidad y fecundidad. En ambas zonas tropicales, la proliferación de la especie está más influenciada por las características intrínsecas del sitio de muestreo (Thomas, 2014).

En ambas localidades del estado Sucre (Cumaná y Carúpano), fueron encontradas las mismas familias (Calliphoridae, Musidae y Sarcophagidae), pero con mayor predominio la familia Calliphoridae con 5 especies (Tabla 2). Es importante resaltar la presencia de esta familia en las adyacencias de los hogares, debido a que la misma se encuentra asociada a cadáveres en descomposición. También se encontró en Cumaná un mayor número de ejemplares de las especies *M. domestica*, *Sarcophaga* sp1, *Lucilia cuprina* y *C. albiceps* en comparación con Carúpano.

Tabla 2. Especímenes de moscas recolectadas en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela

Familia	Moscas	Localidad		
		Cumaná N (%)	Carúpano N (%)	Total N (%)
Calliphoridae	<i>Chrysomya rufifacies</i>	-	5 (20)	5 (10)
	<i>Chrysomya albiceps</i>	5 (20)	2 (8)	7 (14)
	<i>Lucilia cuprina</i>	7 (28)	2 (8)	9 (18)
	<i>Lucilia sericata</i>	-	4 (16)	4 (8)
	<i>Calliphora vicina</i>	-	2 (8)	2 (4)
Sarcophagidae	<i>Sarcophaga</i> sp1	6 (24)	3 (12)	9 (18)
	<i>Sarcophaga</i> sp2	-	4 (16)	4 (8)
Muscidae	<i>Musca domestica</i>	7 (28)	3 (12)	10 (20)

N: Número, %: Porcentaje

Estudios realizados en el municipio Puerto Cabello del estado Carabobo, reportaron cinco especies de la familia Calliphoridae, aunque por ser el primero de su tipo en la zona, pudieran existir más especies de importancia forense. Recientemente, se realizó la revisión de especies de la familia Calliphoridae en Venezuela, a partir de los ejemplares depositados en tres museos venezolanos (Universidad del Zulia, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, sede

Zulia y Universidad Central de Venezuela) y revisión bibliográfica, concluyendo la presencia de cuatro de las cinco subfamilias de Calliphoridae conocidas para la región neotropical, representadas por 12 géneros y 33 especies. Este es uno de los trabajos más completos y actualizados en el país, permitiendo conocer un poco más sobre las especies de importancia forense que se pueden encontrar en un cuerpo humano sin vida, ampliando la distribución de estas especies a otros estados del país que hasta la fecha no tenían una publicación sobre las moscas presentes (Thomas, 2014).

Por otro lado, entre las especies de la familia Calliphoridae encontradas, *Chrysomya albiceps* y *Lucilia cuprina*, coinciden con estudios previos en Carabobo (Liria, 2006; Núñez y Liria, 2014). Adicionalmente, las especies señaladas en este estudio han sido reportadas en otros estados: Aragua, Miranda y Zulia (Mavárez *et al.*, 2005; Velásquez, 2008). Sin embargo, la especie más representativa durante el muestreo en las adyacencias del hospital Adolfo Prince Lara, municipio Puerto Cabello, fue *L. cuprina*, seguida de *C. megacephala*. Un trabajo realizado en Panamá resalta que aquellas especies que colonizan ambientes altamente urbanizados son denominadas eusinantrópicas y los datos demuestran que las actividades humanas favorecen a las poblaciones de ciertas especies (Buitrago *et al.*, 2011).

Las moscas del género *Chrysomya*, fueron introducidas al continente americano a finales de la década de los 70 del siglo pasado (Guimarães *et al.*, 1978) y han ido desplazando a las moscas nativas por su capacidad de adaptarse a ambientes claros, las zonas urbanas y a su alto índice sinantrópico, no solo en Colombia (León *et al.*, 2009), sino en Brasil también (Lomônaco y Almeida, 1995).

*Lucilia cuprina*, está netamente ubicada en zona urbana y su único atrayente son las vísceras de pollo (León *et al.*, 2009). Hay reportes que la ubican en la

región nor-occidental de Venezuela, como los alrededores de la morgue del Hospital Adolfo Prince en el estado Lara, en donde su presencia fue la más dominante con respecto a las otras moscas entre los meses de enero a marzo (Liria, 2006; Núñez y Liria, 2014).

En la ciudad de Coro, en el estado Falcón, a 17 metros sobre el nivel del mar, en la zona semiárida en la región nor-occidental de Venezuela (temperatura promedio de 32°C) y sus alrededores, es común encontrar moscas de las familias Calliphoridae, Muscidae y Sarcophagidae, especialmente *M. domestica* y en particular en las cercanías de los mercados, expendios de comidas, viviendas, depósitos de basura, incluyendo de los hospitales y criaderos de animales en general, con mayor énfasis donde el manejo sanitario es inapropiado (Trasmonte *et al.*, 2009). Como se puede observar, fueron las mismas familias de moscas halladas en el estado Sucre.

En moscas capturadas en granjas de ganado vacuno lechero, han identificado la cohabitación de *M. domestica* con *Stomoxys calcitrans* (Rybarikova *et al.*, 2010) y *M. domestica* con *Muscina stabulans* (Usui *et al.*, 2013). En granjas avícolas, *M. domestica* con *Lucilia* spp., (Blaak *et al.*, 2014) y la presencia única de *Musca vetustissima* en establo de ganado vacuno y área urbana aledaña al establo (Vriesekoop y Shaw, 2010).

La familia Calliphoridae apareció este siglo en Colombia y está estrechamente relacionada con entomología forense en intervalos post-mortem (Wolff *et al.*, 2001; Pérez *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2007). El hecho de que este tipo de moscas se estén aislando en zonas residenciales, implica el mal servicio de aseo urbano en el estado Sucre, donde hay acumulación de basura por largos períodos que atraen este tipo de moscas a las casas aledañas a los depósitos públicos de basura y cadáveres en descomposición.

Las moscas controlan la colonización bacteriana intestinal con la liberación de lisozima en las porciones intestinales ácidas (Lemos *et al.*, 1991; Terra y Ferreira, 1994), que además la ayudan a una digestión excelente junto con las enzimas pepsina, amilasa, maltasa y tripsina secretadas en el intestino (Terra *et al.*, 1988; Jordao y Terra, 1991). Detectar el tipo de bacterias que conforman la microbiota intestinal de los insectos es importante, ya que dependiendo del tipo de bacteria albergada se obtendrá una mejor alimentación y consecuentemente les permitirá funcionar mejor fisiológicamente, con un impacto notable en el desarrollo larval de los insectos (Ridley *et al.*, 2012) almacenamiento de los lípidos en los insectos adultos (Newell y Douglas, 2014), la actividad de las células madres intestinales (Shin *et al.*, 2011) y el apareamiento de los insectos (Sharon *et al.*, 2010).

Durante el análisis bacteriológico de los 50 ejemplares de moscas capturadas en las localidades de Cumaná y Carúpano, se aislaron cuatro especies de bacterias Gram negativas pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y una especie perteneciente a los bacilos Gram negativos no fermentadores (Tabla 3), identificadas con las galerías mini API 20E y 20 NE. Como se puede observar, en las moscas aisladas en Cumaná y Carúpano, *E. coli* fue la principal especie presente tanto en la superficie como en el intestino de todos los ejemplares estudiados. Cabe destacar, que en 32 moscas crecieron hongos además de bacterias (datos no mostrados).

Las enterobacterias *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter* y *Providencia* spp., aisladas del intestino de la mosca mexicana de la fruta fueron identificadas también con las mini galerías API 20E (Martínez *et al.*, 1994). En otro estudio en California, Estados Unidos, identificaron con las mismas galerías las enterobacterias y los no fermentadores (*Enterobacter cloacae*, *E. sakazakii*, *K. pneumoniae*, *Providencia rettgeri* y *P. aeruginosa*) del intestino de las moscas

(Kuzina *et al.*, 2001).

Tabla 3. Bacterias Gram negativas identificadas en moscas procedentes de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela

Especies	Localidad			
	Cumaná		Carúpano	
	Superficie	Intestino	Superficie	Intestino
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<i>E. coli</i>	10 (63)	8 (47)	16 (57)	10 (55)
<i>K. pneumoniae</i>	3 (19)	5 (29)	5 (18)	7 (39)
<i>P. mirabilis</i>	2 (12)	1 (6)	4 (14)	1 (6)
<i>Citrobacter</i> spp.	-	-	1 (4)	-
<i>P. aeruginosa</i>	1 (6)	3 (18)	2 (7)	-
Total	16 (100)	17 (100)	28 (100)	18 (100)

N: Número, %: Porcentaje

En este estudio, se aisló una sola cepa de *Citrobacter* spp., en Carúpano (Tabla 3), lo mismo ocurrió en un estudio con las moscas *Anastrepha ludens*, la cual al final fue identificada como *C. koseri* (Kuzina *et al.*, 2001) en cambio aquí no se pudo llegar al nivel de especie con la misma galería API 20E.

*M. domestica* es hospedera de *Enterococcus* (Macovei y Zurek, 2006); (Graham *et al.*, 2009), como principal patógeno Gram positivo y varias enterobacterias [*E. coli* O157:H7 (Grubel *et al.*, 1997; Sasaki *et al.*, 2000; Alam y Zurek, 2004), *Klebsiella* spp., (Fotedar *et al.*, 1992; Sulaiman *et al.*, 2000), *Salmonella* spp., (Bidawid *et al.*, 1978; Mian y Tacal, 2002), *Shigella* spp., (Levine y Levine, 1991)] y *Vibrio cholerae* (Echeverría *et al.*, 1983; Fotedar, 2001), *Aeromonas caviae* (Nayduch *et al.*, 2001) y Gram negativos exigentes como *Campylobacter fetus* (Rosef y Kapperud, 1983). Por esto, las moscas domésticas están reconocidas como importantes vectores de diseminación de protozoarios, virus y bacterias patógenas (Greenberg, 1965; Scott y Lettig, 1962).

Hubo moscas (*Lucilia cuprina*, *Sarcohpaga* sp1, *Sarcohpaga* sp2 y *Chrysomya*

*albiceps*) con solo tres especies de enterobacterias y un bacilo Gram negativo no fermentador. Entre tanto, *M. domestica*, *Chrysomya rufifacies*, *Lucilia sericata* y *Calliphora vicina*, no poseen *P. aeruginosa* en su microbiota (Tabla 4). En Basrah, Iraq, se aislaron las especies *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter cloacae* y *P. mirabilis* de *M. domestica* (Habeeb y Mahdi, 2012). A diferencia de ese trabajo, en el estado Sucre, no se aislaron cepas de *E. cloacae* en *M. domestica*.

Tabla 4. Especies bacterianas aisladas en las moscas atrapadas en las localidades estudiadas

Moscas	Especies aisladas (N)
<i>Musca domestica</i>	<i>E. coli</i> (8) <i>K. pneumoniae</i> (3) <i>P. mirabilis</i> (1)
<i>Lucilia cuprina</i>	<i>E. coli</i> (7) <i>K. pneumoniae</i> (3) <i>P. mirabilis</i> (2) <i>P. aeruginosa</i> (1)
<i>Chrysomya albiceps</i>	<i>E. coli</i> (7) <i>K. pneumoniae</i> (4) <i>P. mirabilis</i> (1) <i>P. aeruginosa</i> (2)
<i>Sarcophaga</i> sp1	<i>E. coli</i> (7) <i>K. pneumoniae</i> (4) <i>P. mirabilis</i> (2) <i>P. aeruginosa</i> (2)
<i>Chrysomya rufifacies</i>	<i>E. coli</i> (5) <i>K. pneumoniae</i> (2) <i>P. mirabilis</i> (1)
<i>Lucilia sericata</i>	<i>E. coli</i> (4) <i>K. pneumoniae</i> (1)
<i>Sarcophaga</i> sp2	<i>E. coli</i> (4) <i>K. pneumoniae</i> (1) <i>P. mirabilis</i> (1) <i>P. aeruginosa</i> (1)
<i>Calliphora vicina</i>	<i>E. coli</i> (2) <i>K. pneumoniae</i> (2) <i>Citrobacter</i> spp. (1)

N: número absoluto de cepas bacterianas aisladas.

En las afueras de Cumaná, en El Peñón, se realizó una captura de 180 ejemplares adultos de *M. domestica*, los cuales contenían en su exterior (69%) de especies bacterianas, entre las que se encontraron *E. coli* (24%), *Enterobacter aerogenes* (10%), *E. cloacae* y *Proteus mirabilis* (7% cada uno), *P. vulgaris*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., y *K. pneumoniae* (5% cada uno), y *Serratia* spp., (1%) (Muñoz y Rodríguez, 2015). En ese trabajo no se menciona la captura de ningún otro tipo de mosca, a diferencia del realizado aquí, que se reportan cuatro moscas mas, aparte de *M. domestica* (Tabla 2) en Cumaná.

En un trabajo realizado en cinco cafeterías del norte de Bogotá, aislaron especímenes de *M. domestica* portadoras de 47% de bacterias enteropatógenas (*Citrobacter freundii*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Serratia marcenscens*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, *Salmonella* spp., *Acinetobacter calcoaceticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Y. intermedia* y *Providencia rettgeri*. Las moscas no solo transportaban bacterias, sino además parásitos (32%) y hongos (21%); una vez más se ha demostrado que *M. domestica* es un vector mecánico de bacterias enteropatógenas (Quiceno *et al.*, 2010). En Sucre, no se aislaron cepas de *Citrobacter freundii*, *K. oxytoca*, *Serratia marcenscens*, *Enterobacter cloacae*, *E. aerogenes*, *E. gergoviae*, *Salmonella* spp., *Acinetobacter calcoaceticus*, *Yersinia enterocolitica*, *Y. intermedia* ni *Providencia rettgeri*. Sí hubo hongos aislados, más no se identificaron, porque no era el objetivo de este trabajo, ni tampoco se buscaron parásitos.

Cultivos bacterianos de 36 macerados de moscas domésticas revelaron que 13 (36%) de las muestras fueron positivas para algún tipo de enterobacteria. De las 13 muestras, se demostró el estado de portador de *Proteus vulgaris* (54%); *Enterobacter* spp., y *Citrobacter* spp., (38% cada uno), *E. coli* (31%); *Providencia* spp., *Shigella sonnei*, *Morganella* spp., y *Salmonella typhi* (8% cada uno de esas especies). En este trabajo, se consiguió 76% de moscas

colonizadas con bacterias y 68% colonizadas con hongos, como se puede ver, la colonización microbiológica fue mayor en el estado Sucre, Venezuela (Hernández-Escareño *et al.*, 2012).

Diferentes estudios han demostrado que las moscas cumplen un rol muy serio en la transmisión de enfermedades infecciosas, así como la capacidad que tienen algunos agentes patógenos de sobrevivir en las superficies exteriores de las moscas, particularmente entre los numerosos pelos, además el sistema digestivo y la sangre. Entre los organismos encontrados se pueden mencionar bacilos Gram negativos no fermentadores y enterobacterias. Estas bacterias están en capacidad de producir un amplio espectro de infecciones por microorganismos resistentes a los antibióticos de uso clínico humano, con el riesgo de fracaso terapéutico (Casellas, 2011).

En Estados Unidos demostraron la correlación entre la incidencia de disentería con las moscas domésticas portadoras de la bacteria *Shigella dysenteriae* (Levine y Levine, 1991), así como en tropas militares americanas (Cohen *et al.*, 1991) o en Japón, que en una comunidad se demostró que 8% de las moscas domésticas estaban colonizadas con la cepa *E. coli* O157:H7, la misma bacteria que había enfermado a los humanos y que no había fuentes adicionales de contaminación para la misma bacteria (Moriya *et al.*, 1999).

En Venezuela, en el Hospital Universitario “Alfredo Van Grieken”, el mercado y el basurero municipal de Coro, estado Falcón, se aislaron cepas de *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris* y *Providencia rettgeri* sugiriendo, por lo tanto, que los dípteros son importantes vectores en la transmisión de bacterias potencialmente patógenas para el hombre y señalan la importancia de la contaminación bacteriana existente en las cerdas corporales y vellosidades, siendo significativas las ubicadas a nivel de patas y en la probóscide de los dípteros; al entrar éstas en contacto y desplazarse en los distintos sustratos de

ambientes con gran cantidad de desechos sólidos, o a la excreción y/o regurgitación de material contaminado contenido en el tubo digestivo de los mismos, se convierte en factores importantes para la transmisión mecánica y diseminación de patógenos (Trasmonte *et al.*, 2009).

Con respecto al perfil de susceptibilidad de las bacterias aisladas de las moscas domésticas, se han usado técnicas fenotípicas y genotípicas para comparar el perfil de susceptibilidad de las mismas con las bacterias aisladas de muestras de heces de cerdos provenientes de dos porquerías y las bacterias presentaron el mismo perfil de susceptibilidad a los antibióticos (Ahmad *et al.*, 2007); lo mismo ocurrió con las bacterias aisladas de moscas y aquellas aisladas de los desperdicios de pollo de una granja avícola (Graham *et al.*, 2009) y las aisladas de ganado y muestras de heces (Moriya *et al.*, 1999).

Todos los estudios llegaron a la misma conclusión, las moscas son la fuente de diseminación de las bacterias resistentes a los antibióticos. La razón por la que las moscas sean excelentes vectores mecánicos de bacterias resistentes a los antibióticos, es su abundancia y cercanía en todos los ambientes con los seres humanos, así como el desarrollo larval en la naturaleza y sus hábitos alimenticios. Además de su capacidad de volar y diseminar las bacterias a largas distancias (Broce, 1993).

Ninguna de las cepas de *E. coli* resultó productora de AmpC plasmídica. Existe la posibilidad de que haya cepas que sean productoras de carbapenemasas, debido a los niveles de susceptibilidad disminuida a carbapenémicos (Tabla 5). Sin embargo, los halos de inhibición no estaban por debajo de 21 mm para practicarles la prueba de Hodge; sería importante poder realizar al menos pruebas de disco con ácido fenil borónico para poder inhibir una posible carbapenemasa (Pasterán *et al.*, 2009).

Para determinar el tipo de carbapenemasa se debe estudiar por biología molecular. Todas las cepas presentaron alto nivel de resistencia a cloranfenicol. Nueve cepas tenían la primera mutación en los genes de las topoisomerasas (resistencia a ácido nalidíxico), convirtiendo estas cepas resistentes a quinolonas de primera generación y por el bajo nivel presentado a fluoroquinolonas en otras cepas (16), se puede inferir la presencia de otros mecanismos, aquellos adquiridos a través de plásmidos (*aac(6')-Ib-cr*, *qnr* o *qepA*), se recomienda evaluar esas cepas por biología molecular para amplificar el determinante de resistencia a quinolonas en esas cepas (Tabla 5).

El perfil de susceptibilidad de las bacterias aisladas del tracto gastrointestinal de los insectos, varía según la presión selectiva a la cual está sometida la microbiota ambiental. En *M. domestica* se han aislado cepas de *E. coli* O157:H7 resistentes a ácido nalidíxico, las cuales fueron transmitidas al ganado; hecho demostrado por el muestreo de las heces de ese ganado y haber verificado la relación clonal de las bacterias presentes en las moscas y las bacterias aisladas de las heces del ganado (Ahmad *et al.*, 2007). En moscas de establos de ganados lecheros (*M. domestica* y *Stomoxys calcitrans*), se aislaron cepas de *E. coli* resistentes a penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, quinolonas, sulfamidas, trimetoprim, fenicoles y tetraciclinas (Rybarikova *et al.*, 2010). En cepas de *E. coli* O157:H7, provenientes de *M. domestica*, también se ha reportado resistencia a penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim-sulfametoxazol (Alam y Zurek, 2004)

En *M. domestica* y *Muscina stabulans*, se han aislado cepas de *E. coli* resistentes a penicilinas, cefalosporinas, aminoglucósidos, tetraciclinas y trimetoprim en ambiente de cría de ganado vacuno (Usui *et al.*, 2013). De la mosca australiana *Musca vetustissima*, presente en granjas y zonas aledañas, se han aislado cepas de *E. coli*, *Shigella* spp., y *Salmonella* spp., resistentes a penicilinas y cefalosporinas (Vriesekoop y Shaw, 2010).

Tabla 5. Antibiotipos de todas las cepas de *E. coli* aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela

N	ANTIBIÓTICOS												
	AMP	AMC	CAZ	FOX	FEP	IMP	MEN	GEM	AK	NA	CIP	OFX	C
1	R	R	R	I	R	S	S	S	S	I	S	S	R
1	R	R	R	S	R	I	S	S	S	R	I	I	R
1	R	R	R	S	R	I	S	S	S	R	S	S	R
2	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R
2	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
2	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	I	I	R
2	R	R	R	S	R	S	S	S	S	I	S	S	R
1	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	I	R
1	R	R	R	S	R	S	I	S	S	S	S	S	R
1	R	R	R	S	R	S	I	S	I	S	S	S	R
2	R	R	R	S	R	S	I	S	S	I	S	S	R
1	R	I	S	S	I	I	I	S	S	S	S	S	R
1	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
1	R	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	R
1	R	S	S	S	I	I	I	S	S	S	S	S	R
1	R	S	S	S	I	S	S	I	S	S	S	S	R
1	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	R
1	R	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	R
1	R	S	S	S	S	S	I	S	S	R	I	S	R
1	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	R
1	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
1	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
1	I	S	S	S	I	S	I	S	S	R	I	I	R
1	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
1	I	S	S	S	S	S	I	S	S	I	I	S	R
1	I	S	S	S	S	S	I	S	S	I	S	S	R
1	S	I	S	S	I	S	S	S	S	R	I	I	R
1	S	I	S	S	I	S	S	S	S	I	S	S	R
1	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	I	S	R
1	S	I	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R
1	S	S	S	S	S	S	I	S	S	I	S	S	R
7	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R

AMP: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAZ: ceftazidime, FOX: cefoxitina, FEP: cefepime, IMP: imipenem, MEM: meropenem, AK: amikacina, GEM: gentamicina, NA: ácido

nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, OFX: ofloxacina, C: Cloranfenicol, N: Número de cepas

En moscas (*M. domestica*) atrapadas de granjas de ganado porcino, se aislaron cepas de *E. coli* resistentes a penicilinas, aminoglucósidos, sulfamidas y tetraciclinas, no solo en las bacterias de las moscas, sino además en las de la microbiota de las heces de los cerdos y roedores de la granja (Literak *et al.*, 2009). En este trabajo realizado en el estado Sucre, no se aislaron cepas de *Shigella* ni *Salmonella*, pero si se encontraron cepas de *E. coli* resistentes a betalactámicos, aminoglucósidos, quinolonas y fenicoles. No se buscó la resistencia a tetraciclinas, sulfamidas ni trimetoprim.

La cepa *Citrobacter* spp., aislada de *Calliphora vicina*, en Carúpano (Tabla 3), resultó con susceptibilidad intermedia a ácido nalidíxico y sensible a todos los demás antibióticos. Es raro conseguir cepas de *Citrobacter* sensibles a la mayoría de los antibióticos como en este estudio. Se sabe que este tipo de cepas tiene alto nivel de resistencia a los antibióticos de uso clínico humano. Anca *et al.*, (2007), encontraron que las cepas aisladas del intestino de pollos y perros fueron 100% resistentes a aminoglucósidos, tetraciclinas y polimixinas. En un estudio realizado con moscas *L. sericata* y *M. domestica* en Bangladesh, se aislaron varias cepas de *Citrobacter* spp., las cuales eran resistentes a aminoglucósidos y betalactámicos (Parvez *et al.*, 2016). Así mismo, las cepas aisladas de muestras de orinas y heces humanas presentaron altos niveles de resistencia a los antibióticos, como cefalosporinas de tercera generación (90%), aminoglucósidos (63%) y quinolonas (54%) (Darweesh, 2017). Como se puede observar, los antibióticos más afectados son aminoglucósidos, betalactámicos y quinolonas, ya que se transfieren los determinantes de resistencia a través de plásmidos (Wei *et al.*, 2013).

Con respecto a las cepas de *K. pneumoniae* aisladas de las moscas, han sido

bien identificadas, ya que presentan la resistencia natural a aminopenicilinas, característica de esta especie, por ser productoras naturales de la betalactamasa SHV-1 (Tabla 6). Algunas cepas tienen susceptibilidad disminuida a los carbapenémicos y fluoroquinolonas. Se puede observar que hay cepas con mutaciones en el gen de la girasa por la resistencia al ácido nalidíxico (quinolona de primera generación). Cepas resistentes únicamente a fluoroquinolonas, sin la mutación de primer paso en el gen de la girasa, pueden albergar genes de resistencia transportados en plásmidos (Ruiz *et al.*, 2012; Guan *et al.*, 2013).

En el aeropuerto internacional de China, se aislaron cepas de *K. pneumoniae* resistentes a ureidopenicilinas, carboxipenicilinas, cefalosporinas de tercera generación y trimetoprim-sulfametoxazol, recuperadas de las moscas *Chrysomya megacephala*, *Aldrichina grahami*, *Boettcherisca peregrina*, *Muscina stabulans*, *L. sericata* y *Bercaea cruenta* (Liu *et al.*, 2013). En la ciudad de Hamada, en Irán, se aislaron cepas de *Klebsiella* spp., de varios ejemplares de *M. domestica* rondando hospitales y mataderos. Las cepas aisladas de las moscas de los hospitales presentaron mayores tasas de resistencia a los antibióticos de uso clínico humano (100% a cefalosporinas de tercera generación, 81% a fluoroquinolonas y 66% a nitrofurantoína, 34% a cloranfenicol y 31% a tetraciclina), y las de los mataderos, fueron 100% resistentes a cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas (Nazari *et al.*, 2017).

En este estudio, todas las cepas de *P. mirabilis* resultaron resistentes a cloranfenicol y con niveles variables de resistencia intermedia a alta a ácido nalidíxico (Tabla 7). La resistencia a betalactámicos se explica más adelante. En un estudio realizado en diferentes estadios evolutivos de *M. domestica* (pupa, larva y adulto), se aislaron cepas de *P. mirabilis* resistentes a tetraciclinas (100%), aminoglucósidos (72%) y ácido nalidíxico (63%) (Wei *et al.*,

2013). Las cepas de *Proteus* spp., aisladas de moscas de hospitales fueron resistentes a fluoroquinolonas (64%), cefalosporinas de tercera generación (32%), tetraciclinas (19%) y trimetoprim-sulfametoxazol (16%) (Nazari *et al.*, 2017). Ninguna de las cepas aisladas de las moscas de esos estudios presentó resistencia a carbapenémicos.

Tabla 6. Antibiotipos de las cepas de *K. pneumoniae* aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela

N	ANTIBIÓTICOS												
	AM	TZP	CAZ	FOX	FEP	IPM	MEN	GM	AK	NA	CIP	OFX	C
1	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	I	S
2	R	R	R	R	R	R	I	S	S	R	I	S	S
1	R	R	R	R	R	I	I	I	I	R	R	I	S
2	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	I	I	S
1	R	R	R	R	R	I	I	S	I	R	R	I	I
1	R	R	R	R	R	I	I	S	I	I	R	I	S
1	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	R	I	R
2	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	R	I	S
1	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	R	S	S
1	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	R	R	R
1	R	R	R	R	R	I	S	I	S	R	R	R	S
1	R	R	R	R	R	I	S	S	S	I	S	S	R
2	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	I	S
1	R	R	R	R	R	S	I	R	S	R	R	R	S
1	R	R	R	R	R	S	I	S	S	I	I	I	S

AMP: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAZ: ceftazidime, FOX: cefoxitina, FEP: cefepime, IMP: imipenem, MEM: meropenem, AK: amikacina, GEM: gentamicina, NA: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, OFX: ofloxacina, C: Cloranfenicol, N: Número de cepas

Las cepas de *P. aeruginosa* (6) presentaron resistencia a todos los betalactámicos, aminoglucósidos y fluoroquinolonas (Tabla 8). Con respecto a los betalactámicos, hay producción de AmpC desreprimida en cuatro cepas, BLEE en dos cepas y carbapenemasas en seis cepas aisladas en este trabajo (Tabla 9). El alto nivel de resistencia a aminoglucósidos y carbapenémicos, puede sugerir alteración de la permeabilidad de la pared. Dos cepas

presentaron sinergismo con el disco de EDTA y los carbapenémicos, lo que sugiere presencia de metalobetalactamasa (12C8 y 12D7); para la identificación correcta, se deben realizar pruebas moleculares.

Tabla 7. Antibiotipos de las cepas de *P. mirabilis* aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela

N	ANTIBIÓTICOS												
	AMP	TZP	CAZ	FOX	FEP	IMP	MEN	GM	AK	NA	CIP	OFX	C
1	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	S	S	R
3	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R
2	R	R	R	R	S	I	I	S	S	I	S	S	R
2	R	R	R	S	R	I	I	S	S	I	S	S	R

AMP: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAZ: ceftazidime, FOX: cefoxitina, FEP: cefepime, IMP: imipenem, MEM: meropenem, AK: amikacina, GEM: gentamicina, NA: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, OFX: ofloxacina, C: Cloranfenicol, N: Número de cepas

Cepas de *P. aeruginosa* aisladas de moscas de hospitales de Sanandaj, en Irán, mostraron resistencia a aminoglucósidos, fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación por debajo de 50% (Davari *et al.*, 2010). En las provincias de Shahrekord e Isfahan, también en Irán, se aislaron cepas de *P. aeruginosa* de *M. domestica*, que eran resistentes de 45 a 100% a betalactámicos (incluyendo carbapenémicos), aminoglucósidos y quinolonas (Hemmatinezhad *et al.*, 2015).

Tabla 8. Antibiotipos de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas de las moscas de las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela

N	ANTIBIÓTICOS								
	TZP	CAZ	FEP	IPM	MEN	GM	AK	CIP	OFX
1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1	I	R	R	R	R	R	R	R	R
4	I	R	I	R	R	R	R	R	R

AMP: ampicilina, TZP: piperacilina-tazobactam, CAZ: ceftazidime, FOX: cefoxitina, FEP: cefepime, IMP: imipenem, MEM: meropenem, AK: amikacina, GM: gentamicina, NA: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, OFX: ofloxacina, C: Cloranfenicol, N: Número de cepas

Estos resultados son preocupantes, ya que las familias de antibióticos

empleadas para tratar infecciones graves en humanos por esta especie, son justamente, carbapenémicos y aminoglucósidos. En un estudio realizado en cepas aisladas de pacientes del hospital Universitario de Uberlandia en Brasil, 43% de los pacientes con bacteriemia por estas cepas, fueron admitidos en terapia intensiva, debido al fracaso terapéutico y deterioro de los pacientes por el alto nivel de resistencia a carbapenémicos (Gonçalves *et al.*, 2017).

Cuando se hizo la búsqueda de serinocarbapenemasas por métodos microbiológicos, se pudo determinar que la prueba de Hodge modificada fue negativa para todas las cepas probadas (Tabla 9). Sin embargo, cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis* con susceptibilidad intermedia a carbapenémicos (Tablas 4 – 7), y *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos (Tabla 8) deben ser estudiadas por pruebas moleculares, para poner en evidencia el mecanismo de resistencia implicado. Hay reportes internacionales que demuestran que la prueba de Hodge modificada puede dar resultados falsos negativos en cepas hiperproductoras de AmpC (Miriagou *et al.*, 2010) o CTX-M (Pasterán *et al.*, 2009).

Por otro lado, se puede observar en la tabla 9 que pocas cepas de *E. coli* presentaron BLEE (6), y ninguna AmpC. Las cepas de *K. pneumoniae* presentan de forma simultánea las betalactamasas BLEE y AmpC, excepto 12D4. Las cepas de *P. mirabilis* poseían AmpC (6) y BLEE (6), cuatro cepas tenían estas enzimas de forma simultánea. Y en *P. aeruginosa* cuatro tenían AmpC desreprimida, dos tenían BLEE y solo una cepa tenía ambas enzimas (12D7).

Es indispensable el uso de biología molecular para hacer el seguimiento de la epidemiología de la resistencia bacteriana a betalactámicos de estas cepas por producción de betalactamasas en cepas aisladas de moscas en dos localidades distantes, Cumaná y Carúpano.

Tabla 9. Resumen de los métodos microbiológicos para la comparación de la producción de betalactamasas en bacterias de la microbiota de moscas aisladas de Cumaná y Carúpano, estado Sucre

Especie	Métodos microbiológicos		
	BLEE	AmpC	Hodge
<i>E. coli</i> 11I10	-	-	-
<i>E. coli</i> 11I7	-	-	-
<i>E. coli</i> 11C2	-	-	-
<i>E. coli</i> 11I2	-	-	-
<i>E. coli</i> 12D5	-	-	-
<i>E. coli</i> 11E6	-	-	-
<i>E. coli</i> 11H9	-	-	-
<i>E. coli</i> 11B2	-	-	-
<i>E. coli</i> 12A8	-	-	-
<i>E. coli</i> 12C3	-	-	-
<i>E. coli</i> 11C7	-	-	-
<i>E. coli</i> 12D1	-	-	-
<i>E. coli</i> 12A2	-	-	-
<i>E. coli</i> 11B6	-	-	-
<i>E. coli</i> 12E9	-	-	-
<i>E. coli</i> 9H5	-	-	-
<i>E. coli</i> 12A5	-	-	-
<i>E. coli</i> 11B4	-	-	-
<i>E. coli</i> 12A1	-	-	-
<i>E. coli</i> 12H10	-	-	-
<i>E. coli</i> 11C5	-	-	-
<i>E. coli</i> 11J9	-	-	-
<i>E. coli</i> 11D8	-	-	-
<i>E. coli</i> 9H7	+	-	-
<i>E. coli</i> 11J2	-	-	-
<i>E. coli</i> 12H4	+	-	-
<i>E. coli</i> 112B8	-	-	-
<i>E. coli</i> 12B2	-	-	-
<i>E. coli</i> 11J3	-	-	-
<i>E. coli</i> 12F6	-	-	-
<i>E. coli</i> 11C1	-	-	-
<i>E. coli</i> 12D9	-	-	-
<i>E. coli</i> 11J7	-	-	-
<i>E. coli</i> 11J4	-	-	-
<i>E. coli</i> 11I6	+	-	-
<i>E. coli</i> 12I10	+	-	-
<i>E. coli</i> 12G8	+	-	-
<i>E. coli</i> 12I7	-	-	-
<i>E. coli</i> 12I8	-	-	-

Tabla 9. Continuación

Especie	Métodos microbiológicos		
	BLEE	AmpC	Hodge
<i>E. coli</i> 12I1	-	-	-
<i>E. coli</i> 12I3	-	-	-
<i>E. coli</i> 12I4	+	-	-
<i>E. coli</i> 12I9	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> 11D6	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 11I6	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 11H10	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12F2	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 11F5	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 11I8	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12F1	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12H1	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12C1	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 11I5	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12F7	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12H5	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12B10	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12D4	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> 11B5	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12A3	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12F4	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12G9	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12A9	+	+	-
<i>K. pneumoniae</i> 12B7	+	+	-
<i>P. mirabilis</i> 11E10	-	+	-
<i>P. mirabilis</i> 12C5	-	+	-
<i>P. mirabilis</i> 12A7	+	-	-
<i>P. mirabilis</i> 11E2	+	-	-
<i>P. mirabilis</i> 12I2	+	+	-
<i>P. mirabilis</i> 11F4	+	+	-
<i>P. mirabilis</i> 11D3	+	+	-
<i>P. mirabilis</i> 12E3	+	+	-
<i>P. aeruginosa</i> 12C8	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> 11J8	-	+	-
<i>P. aeruginosa</i> 11C6	-	+	-
<i>P. aeruginosa</i> 11C9	+	-	-
<i>P. aeruginosa</i> 11J5	-	+	-
<i>P. aeruginosa</i> 12D7	+	+	-

BLEE: betalactamasa de espectro extendido.

Cepas de *E. coli* aisladas de heces de caballos y moscas de la República

Checa, eran portadoras de genes de resistencia *bla*<sub>CTX-M-1</sub> y resistentes de 7 a 12 antibióticos probados, entre los cuales estaban, quinolonas, cefalosporinas de tercera generación, metronidazol, aminoglucósidos y sulfamidas. Los investigadores asumen la presencia de estas bacterias resistentes al hecho de que los caballos reciben tratamientos antibióticos y las moscas se posan sobre la materia fecal de los caballos (Dolejska *et al.*, 2011), así mismo se han encontrado cepas productoras de BLEE en granjas de cerdos y establos de ganado vacuno (Literak *et al.*, 2009; Rybarikova *et al.*, 2010). En Barcelona, España, se sembraron moscas (*M. domestica*, *Stomoxys calcitrans*, *Fannia canicularis*, *Ophyra* spp., entre otras) atrapadas en avícolas y se aislaron cepas de *E. coli* resistentes a cefalosporinas y quinolonas, portadoras de los genes *bla*<sub>CTX-M</sub> en sus variantes 1, 9 y 14 (Solà *et al.*, 2015).

Encontrar cepas de *E. coli* productoras de BLEE fuera del medio hospitalario, cada vez se hace más frecuente y en animales o en sus heces es muy alto, debido al abuso de antibióticos en el sector pecuario como metafilaxia, así como en el uso de los antibióticos como promotores de crecimiento animal. En Bengala Occidental, se hicieron hisopados rectales a los pollos híbridos de la India, llamados Kuroiler y se amplificaron por PCR genes de betalactamasas de amplio espectro TEM y SHV, más no de BLEE (Ghosh *et al.*, 2017). Sin embargo, estudios anteriores, encontraron 6% de cepas de *E. coli* productoras de BLEE, provenientes de cerdos (Samanta *et al.*, 2015). En países en donde el control del uso de antibióticos en animales es restringido, se siguen aislando cepas resistentes a los antibióticos de uso clínico humano, como es el caso de Noruega (Mo *et al.*, 2016), o Suecia (Börjesson *et al.*, 2015). De ahí la importancia de realizar PCR para poder amplificar los genes de resistencia a betalactámicos de las cepas aisladas de moscas en el estado Sucre.

Conocer el estado de portador de las moscas con bacterias resistentes a los antibióticos de uso clínico humano es fundamental, ya que las moscas se posan

sobre los alimentos y estas bacterias llegan al intestino humano a través de la cadena alimenticia. En los distritos de Mongu y Lusaka de Zambia, se aislaron moscas de mercados de peces que contenían (17%) de cepas productoras de BLEE, lo cual permite hacer un llamado a la higiene y a los buenos hábitos alimenticios en los países en vías de desarrollado, para evitar intoxicaciones alimentarias que puedan ser intratables (Songe *et al.*, 2017). Las moscas son vectores en la diseminación de genes de resistencia de las betalactamasas (*bla<sub>CTX-M</sub>*) de espacios insalubres al humano (Usui *et al.*, 2013), debido a su capacidad de volar largas distancias (5 a 7 km), a su característica coprofágica y sinantrópica (Onwugamba *et al.*, 2018).

En las provincias de Chaharmahal, VA Bakhtiari e Isfahan en Irán, se aislaron cepas de *K. pneumoniae* (11%) de las moscas capturadas en hospitales, mataderos, centros veterinarios clínicos, establos y avícolas. Las cepas presentaron grados variables de resistencia a aminopenicilinas (80%), ureidopenicilinas (79%), cefalosporinas de tercera generación (79%) y carbapenémicos (16%), además de resistencias acompañantes a fenicoles, quinolonas, aminoglucósidos y tetraciclinas (Ranjbar *et al.*, 2016).

Estar colonizado a nivel intestinal por este tipo de bacterias comensales resistentes es una fuente de determinantes de resistencia para las bacterias patógenas. Hisopados rectales fueron practicados a pacientes no hospitalizados durante un periodo de tres años, cada tres meses, para verificar su estado prolongado de portador de cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de BLEE que presentaban episodios de infecciones urinarias y la mayoría de los pacientes estaban colonizados con cepas productoras de BLEE y las cepas aisladas de los urocultivos, también producían BLEE (Jørgensen *et al.*, 2017).

En varias granjas de engorde de cerdos en Alemania, se hizo un muestreo para aislar enterobacterias resistentes a carbapenémicos. En dicho muestreo se

aislaron cepas de *E. coli* productoras de carbapenemasas tipo VIM y otras enterobacterias resistentes a carbapenémicos pero que no albergan genes para carbapenemasas conocidos o pueden tener otros mecanismos de resistencia como permeabilidad alterada (Roschanski *et al.*, 2017). De muestras de carne de pollo compradas en Zagazig, Egipto, se aislaron cepas de enterobacterias (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. oxytoca* y *Citrobacter* spp.), productoras tanto de BLEE (65%) tipo CTX-M-15 como carbapenemasas (11%) tipo NDM, amplificadas por PCR y secuenciadas (Abdallah *et al.*, 2015). Esto es grave, ya que este tipo de carbapenemasa se encuentra en plásmidos altamente transferibles a bacterias clínicamente importantes y los carbapenémicos son los antibióticos de último recurso para tratar infecciones graves por bacterias multirresistentes (Kumarasamy *et al.*, 2010).

China es uno de los principales productores de pollo a nivel mundial y el abuso de los antibióticos ha sido una constante para favorecer el crecimiento de los animales de consumo humano. Es por eso que para hacer una vigilancia epidemiológica de la diseminación de los determinantes de resistencia entre los animales y el ambiente, se muestrearon aves de corral, perros, aguas residuales, pájaros salvajes y moscas.

Estos investigadores encontraron que NDM se moviliza rápidamente entre bandadas de pájaros silvestres, perros y moscas en China (Wang *et al.*, 2017). En las enterobacterias y no fermentadores aislados en el estado Sucre, no se realizó la PCR para amplificar los tipos de carbapenemasas detectados en Venezuela, pero sería interesante poder realizarlo y así completar el estudio epidemiológico de la resistencia bacteriana vectorizado por moscas.

Cuando se buscó la clonalidad de las cepas por antibiotipificación, se pudo comprobar que dos cepas de *E. coli* (11C2 y 11I7), tanto de la superficie como del intestino, aisladas de *Sarcophaga* sp2 de Carúpano son las mismas (Tabla

10). Es curioso observar que la cepa de *E. coli* (11I2) aislada de la mosca *C. vicina* de Carúpano, tenga el mismo perfil de susceptibilidad de las cepas 11C2 y 11I7. Pero mucho más curioso es que el perfil de susceptibilidad de las cepas de *E. coli* 12F6 y 12B8 sean exactamente iguales, cuando fueron aisladas de moscas diferentes, una en Cumaná (*C. albiceps*) y la otra en Carúpano (*L. sericata*), así como las cepas 12H4 y 11J2, de Cumaná (*C. albiceps*) y Carúpano (*C. rufifacies*), respectivamente.

Con respecto a las cepas de *K. pneumoniae* aisladas de las moscas, tanto del intestino como del exterior, no se encontraron clones por antibiotipificación (Tabla 11). Esto indica que, la mayoría de las moscas arrastran en su cuerpo, bacterias propias del ambiente, y que no siempre se consiguen las bacterias que colonizan el intestino, en la superficie de las moscas, a pesar de que las moscas regurgitan y defecan cada vez que se posan sobre una superficie.

Para poder hacer estudios más completos sobre la microbiota intestinal de las moscas, se deberían emplear técnicas como la metagenómica (no cultivo dependiente), para obtener el total de las bacterias no cultivables que compone la microbiota además de los genes de resistencia a los antibióticos que se convierte en una fuente de diseminación importante (Krishnan *et al.*, 2014). Se sabe que las bacterias cultivables representan < 1% del total de la microbiota de los insectos (Staley y Konopka, 1985). Es interesante, pero las bacterias que conforman la microbiota de los insectos, no solo pueden causar enfermedades infecciosas mortales, sino que, además, pueden ayudar a evolucionar la industria de los biocatalizadores para desarrollar estrategias innovadoras en la identificación de moléculas inteligentes con fines biotecnológicos (Krishnan *et al.*, 2014).

Tabla 10. Cepas de *E. coli* aisladas simultáneamente tanto en la superficie como en el intestino de las moscas atrapadas en las localidades de Cumaná y

Carúpano, estado Sucre, Venezuela.

Moscas	Localidad	Cepa	A	A	C	F	F	I	M	A	G	N	C	O	C
			M	M	A	O	E	P	E	K	E	A	I	F	
			P	C	Z	X	P	M	M	M	M	P	X		
<i>C. rufifacies</i>	Carúpano	11J2*	R	R	R	S	R	S	I	S	S	I	S	S	R
		11J3 <sup>β</sup>	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R
<i>L. cuprina</i>	Carúpano	12I6*	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	I	I	R
		12I7 <sup>β</sup>	R	S	S	S	S	S	I	S	S	R	I	S	R
	Cumaná	12E9*	R	I	S	S	I	I	I	S	S	S	S	S	R
<i>L. sericata</i>	Carúpano	12G8 <sup>β</sup>	R	R	R	S	R	I	S	S	S	R	I	I	R
		12A1*	R	S	S	S	I	S	S	I	S	S	S	S	R
<i>C. albiceps</i>	Cumaná	12B8 <sup>β</sup>	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
		12F6*	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R
<i>C. vicina</i>	Carúpano	12H4 <sup>β</sup>	R	R	R	S	R	S	I	S	S	I	S	S	R
		11C5*	R	R	R	S	R	S	S	S	S	I	S	S	R
<i>Sarcophaga</i> sp2	Carúpano	11I2 <sup>β</sup>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R
		11C2*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R
<i>M. domestica</i>	Cumaná	11I7 <sup>β</sup>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	R
		11C1*	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
		12D9 <sup>β</sup>	R	I	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	R
		12I4*	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	I	R
<i>Sarcophaga</i> sp1	Cumaná	12E2 <sup>β</sup>	R	R	R	I	R	S	S	S	S	I	S	S	R
		12H10	I	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
		12I1 <sup>β</sup>	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R	I	S	R

AMP: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAZ: ceftazidime, FOX: cefoxitina, FEP: cefepime, IMP: imipenem, MEM: meropenem, AK: amikacina, GEM: gentamicina, NA: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, OFX: ofloxacina, C: cloranfenicol. \*Superficie, <sup>β</sup>Intestino.

Las moscas en su recorrido, van adquiriendo una gran cantidad de bacterias, algunas son patógenas reconocidas y además poseen mecanismos de resistencia a los antibióticos de uso clínico humano. Pero, que las bacterias de la microbiota de los insectos tengan genes de resistencia a los antibióticos no significa que estén expuestas a antibióticos precisamente, puede que se vean afectadas por la dieta de los insectos. La larva de la mosca de la oliva selecciona bacterias resistentes como respuesta al estrés general incitado por la exposición de solventes (Kadavy *et al.*, 2000). Dichas bacterias adquieren bombas de eflujo para expulsar esas sustancias del citoplasma, convirtiéndose la sobrevivencia en el intestino en un verdadero reto químico ambiental (Allen *et al.*, 2009).

Tabla 11. Cepas de *K. pneumoniae* aisladas simultáneamente tanto en la superficie como en el intestino de las moscas atrapadas en las localidades de Cumaná y Carúpano, estado Sucre, Venezuela

Moscas	Localidad	Cepa	A	A	C	F	F	I	M	A	G	N	C	O	C
			M	M	A	O	E	P	E	K	E	A	I	F	
			P	C	Z	X	P	M	M		M		P	X	
<i>L. sericata</i>	Cumaná	12F1*	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	R	I	S
		12H1 <sup>β</sup>	R	R	R	R	R	I	I	S	I	I	R	I	S
<i>C. albiceps</i>	Cumaná	12F2*	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	I	I	S
		12H5 <sup>β</sup>	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	R	I	S
<i>C. vicina</i>	Carúpano	11F5*	R	R	R	R	R	I	I	S	S	I	R	I	R
		12B10 <sup>β</sup>	R	R	R	R	R	R	I	S	S	R	I	S	S
<i>Sarcophaga</i> sp1	Carúpano	12C1*	R	R	R	R	R	I	I	S	I	R	R	I	I
		11I5 <sup>β</sup>	R	R	R	R	R	I	S	S	S	R	R	R	S

AMP: ampicilina, AMC: amoxicilina-ácido clavulánico, CAZ: ceftazidime, FOX: cefoxitina, FEP: cefepime, IMP: imipenem, MEM: meropenem, AK: amikacina, GEM: gentamicina, NA: ácido nalidíxico, CIP: ciprofloxacina, OFX: ofloxacina, C: cloranfenicol. \*Superficie, <sup>β</sup>Intestino.

Por otro lado, se sabe que las bacterias secretan una gran variedad de biomoléculas que median procesos y coordinan los niveles de población, aparte del comportamiento celular. Las moléculas que forman parte del proceso de señalización y la liberación de compuestos volátiles, pueden tener efecto antibacteriano (Weise *et al.*, 2014). Está demostrado que los gases biogénicos de amonio modulan la resistencia bacteriana en bacterias Gram positivas y Gram negativas (Létoffé *et al.*, 2014). Pequeñas moléculas difusibles sirven como agentes de comunicación para coordinar diversas actividades entre bacterias. En cepas de *E. coli* se han caracterizado 14 compuestos volátiles que poseen una miríada de efectos en la formación de biopelículas, patrón de motilidad y resistencia antibiótica en *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa* y *Bacillus subtilis* (Létoffé *et al.*, 2014). Más allá de la actividad antibacteriana, los compuestos volátiles participan en la comunicación intra e inter-especies, tanto física, en el contacto célula-célula, como química, con la difusión de las moléculas (Bernier *et al.*, 2011).

La sinantropía de las diferentes especies de moscas sirve como bioindicador de

susceptibilidad de contaminación en su ambiente natural. A pesar de que en este trabajo no se pudo determinar el índice de sinantropía (Nuorteva, 1963), se puede ver, cómo moscas que no deben estar en zonas urbanas, se encuentran tanto en la localidad de Cumaná como en Carúpano. Por otro lado, la OMS declaró el 2011 como el año mundial de lucha contra la resistencia bacteriana. En este trabajo se puede observar claramente, cómo bacterias resistentes están dispersas por todas partes, incluyendo las moscas y por su poder de volar, son capaces de diseminar los genes de resistencia a muchos kilómetros de distancia.

Realizar estos estudios microbiológicos es importante, ya que se puede hacer no solo el control microbiológico del tipo de patógenos que se transportan mecánicamente en las moscas y su perfil de susceptibilidad, sino que además puede emplearse como indicador de la estabilidad del sistema (Morales y Peláez, 2010).

La mosca *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), del mediterráneo, produce grandes pérdidas económicas porque oviposiciona los cultivos de frutas y sus gusanos se desarrollan dentro de la mismas, dañando el producto. Para disminuir el impacto del uso de pesticidas, se han desarrollado métodos alternativos para diezmar la población de estas moscas en los cultivos. La  $\delta$ -irradiación es la forma como han conseguido esterilizar machos de esta mosca, para luego soltarlos en el campo y que copulen con las hembras, sin que generen nueva descendencia y así salvar los cultivos frutales (Lux *et al.*, 2002). El problema es que los machos estériles por este método son menos competentes para aparearse con las hembras. Como las bacterias son elementos importantes en el ciclo de vida de la mosca, investigadores estudiaron la estructura de la comunidad de la microbiota intestinal en moscas macho irradiadas, para mejorar el comportamiento sexual de las mismas.

Aunque las bacterias de la familia Enterobacteriaceae sigue siendo el grupo bacteriano dominante presente en el intestino de las moscas irradiadas, se demostró que las especies de *Klebsiella* spp., disminuyen significativamente en estas moscas en los días posteriores a la esterilización. Además, hubo un aumento significativo de cepas de *Pseudomonas* spp., en el intestino de las moscas. Demostraron que la regeneración de la comunidad original de la microbiota bacteriana intestinal post-irradiación, al añadir la especie *Klebsiella oxytoca* en la dieta de los machos irradiados, mejoró el rendimiento masculino de los ejemplares estériles y disminuyó los niveles de *Pseudomonas* spp., (Ami *et al.*, 2009). Este estudio comprueba, que las bacterias intestinales de las moscas no son solo patógenos multirresistentes, sino que además favorecen el apareamiento de las moscas, aunque todavía no esté muy claro, cómo es el mecanismo.

Las moscas domésticas no sólo diseminan bacterias resistentes a los antibióticos, sino también son capaces de transmitir toxoplasmosis al colocar los ooquistes de *Toxoplasma gondii* que arrastran al posarse sobre las heces de gatos contaminados con el parásito (Wallace, 1971), o la enfermedad Tracoma con moscas contaminadas con la bacteria *Chlamydia trachomatis* (Emerson *et al.*, 1999). Por lo tanto, se debe tener mucho cuidado con los alimentos, las heridas de humanos y animales, ya que se ha demostrado en muchos casos, que algunas moscas, tienen la capacidad de producir miasis.

A pesar de que se ha dicho del rol importante de las moscas en la diseminación de los determinantes de resistencia y bacterias patógenas, las larvas de la mosca *Lucilia sericata* pueden ser empleadas para tratar infecciones de piel y tejidos blandos, puesto que está demostrado que, al alimentarse de tejidos necrosados, ayudan a debridar la zona infectada, de hecho, esta técnica antigua, está aprobada por la FDA para pacientes con úlceras por presión, pie diabético y úlceras venosas (Lazaro *et al.*, 2017). Las larvas de *L. sericata*

producen enzimas proteolíticas que degradan el tejido necrosado sin afectar el sano (Sherman, 2003), lo cual reduce el tiempo de administración de antibióticos así como la sanación de la herida (Armstrong *et al.*, 2005). Pero para evitar complicaciones infecciosas, se deben emplear larvas suministradas por un proveedor que garantice la esterilidad de las mismas y ser aplicado por especialistas en centros de salud (Soares *et al.*, 2009).

## CONCLUSIONES

Dejar basuras en los alrededores de las casas, que contengan restos de productos cárnicos en descomposición, atraerá moscas sarcófagas a las residencias, con mayor potencial de diseminación de bacterias patógenas.

La temperatura no es el único factor que favorece la presencia de algunos especímenes de moscas, ya que en ambas localidades del estado Sucre, existe una temperatura parecida y, sin embargo, hay especies de moscas en Carúpano que no fueron detectadas en Cumaná.

Consumir alimentos pisados por moscas, es un riesgo de infección por bacilos Gram negativos comunes, transportados tanto en su intestino como su exterior.

La mayoría de las cepas de enterobacterias provenientes de las moscas tienen mecanismos de resistencia a los antibióticos de uso clínico humano (betalactámicos, fenicoles y quinolonas), imposibilitando su uso en caso de infecciones graves. Las cepas de *P. aeruginosa* tienen resistencia a todos los antibióticos probados.

## RECOMENDACIONES

Es importante estudiar las cepas de *E. coli* con sueros de tipificación para poder evaluar el poder patogénico de las mismas, ya que es la especie predominante, tanto en el intestino de las moscas, como en el exterior, tanto en Cumaná como en Carúpano.

Hay que hacer pruebas moleculares para la identificación de las betalactamasas encontradas en las cepas de este estudio y poder establecer el poder de diseminación de genes de resistencia a los antibióticos de uso clínico humano, en vectores mecánicos, así como pruebas de serotipificación a las cepas que presentaron los mismos antibiotipos para confirmar su clonalidad.

Extender el período de captura de las moscas, para poder establecer la presencia de otros géneros en el estado Sucre y poder determinar el índice de sinantropía.

Realizar capturas durante un año continuo, especialmente a los alrededores de los Hospitales, Mercados y Mataderos.

## BIBLIOGRAFÍA

Abdallah, H; Reuland, E; Wintermans, B; al Naiemi, N; Koek, A; Abdelwahab, A; Ammar, A; Mohamed, A. y Vandenbroucke-Grauls, C. 2015. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and/or carbapenemases-producing Enterobacteriaceae isolated from retail chicken meat in Zagazig. *Public Library of Science*, 10(8):230-250.

Ahmad, A.; Nagaraja, T. y Zurek, L. 2007. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 to cattle by house flies. *Preventive Veterinary Medicine*, 80:74-81.

Akhtar, M.; Hirt, H. y Zurek, L. 2009. Horizontal transfer of the tetracycline resistance gene *tetM* mediated by pCF10 among *Enterococcus faecalis* in the house fly (*Musca domestica* L.) alimentary canal. *Microbial ecology*, 58:509-518.

Alam, M. y Zurek, L. 2004. Association of *Escherichia coli* O157:H7 with houseflies (*Musca domestica*) on a cattle farm. *Applied and Environmental Microbiology*, 70:7578-7580.

Allen, H.; Cloud-Hansen, K.; Wolinski, J.; Guan, C.; Greene, S.; Lu, S.; Boeyink, M.; Broderick, N.; Raffa, K. y Handelsman, J. 2009. Resident microbiota of the gypsy moth midgut harbors antibiotic resistance determinants. *DNA and Cell Biology Journal*, 28(3):109-117.

Ami, B; Yuval, B. y Jurkevitch, E. 2009. Manipulation of the microbiota of mass-reared Mediterranean fruit flies *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) improves sterile male sexual performance. *International Society for Microbial Ecology Journal*, 4(10):28-37.

Anca, M; Răpunțean, G; Oros, N; Cernea, M. y Chereji, R. 2007. The antibiotic resistance phenomenon in *Citrobacter* strains isolated from animals. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca*, 64: 174-177.

Armstrong, D; Salas, P. y Short, B. 2005. Maggot therapy in "lower-extremity hospice" wound care: fewer amputations and more antibiotic-free days. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 95:254-257.

Barros, C. y Antunes, C. 2008. Key to the adults of the most common forensic species of Diptera in South America. *Revista Brasileira de Entomologia*, 3(52):390-406.

Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J. y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45:493-495.

Baumgartner, D. y Greenberg, B. 1985. Distribution and medical ecology of the blow flies (Diptera, Calliphoridae) of Perú. *Annals of the Entomological Society of America*, 78(5):565-587.

Béjar, V.; Chumpitaz, J.; Pareja, E.; Valencia, B.; Huamán, A.; Sevilla, C y Tapia, M. 2006. Musca doméstica como vector mecánico de bacterias enteropatógenas en mercados y basurales de Lima y Callao. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 1(23):39-43.

Benavides, L.; Aldama, A. y Vázquez, H. 2005. Vigilancia de los niveles de uso de antibióticos y perfiles de resistencia bacteriana en hospitales de tercer nivel de la Ciudad de México. *Salud Pública de México*, 3(47):219-224.

Bernier, S.; Létoffé, S.; Delepierre, M. y Ghigo, J. 2011. Biogenic ammonia modifies antibiotic resistance at a distance in physically separated bacteria. *Molecular Microbiology*, 81:705-716.

Bidawid, S.; Edeson, J.; Ibrahim, J. y Matossian, R. 1978. The role of non-biting flies in the transmission of enteric pathogens (*Salmonella* species and *Shigella* species) in Beirut, Lebanon *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 72:117-121.

Biomériux. 2010. "Api 20E sistema de identificación para *Enterobacteriaceae* y otros bacilos Gram-negativos y Api 20NE para bacilos no fermentadores". <<http://biomanufacturing.org/uploads/files/587872707301898351-api20einstructions.pdf>> (02/06/2017).

Blaak, H; Hamidjaja, R.; Van Hoek, A.; De Heer, L.; De Roda, A. y Schets, F. 2014. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* on flies at poultry farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 80:239-246.

Black, W. y Krafur, E. 1986. Population biology and genetics of winter housefly (Diptera, Muscidae) populations. *Annals of the Entomological Society of America*, 79:636-644.

Börjesson, S; Guillard, T; Landen, A; Bengtsson, B. y Nilsson, O. 2015. Introduction of quinolone resistant *Escherichia coli* to Swedish broiler population by imported breeding animals. *Veterinary Microbiology*, 194:74-78.

Bradford, A. 2001. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st Century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4):933-951.

Broce, A. 1993. Dispersal of house flies and stable flies. *Rural flies in the urban environment*, 317:50–60.

Buitrago, Y.; Miranda, R. y Bermúdez, S. 2011. Calliphoridae (Insecta: Diptera) de Ciudad de Panamá, Panamá, con énfasis en la distribución actual del género *Chrysomya* Robienau-Desvoidy 1830. *Sociedad de Entomología Aragonesa*, 49:303-307.

Burke, A. 2000. Antibiotic Resistance. *Medical Clinics of North America*, 84(6):1407-1429.

Cañadas, A.; Rade, D. y Zambrano, C. 2014. Diptera (Tephritidae) y su relación con factores abióticos, en la región Santa Elena, Ecuador. *Revista Colombiana de Entomología*, 40(1):55-62.

Casellas, J. 2011. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana Salud Pública*, 30(6):519-28.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2016. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eighteenth informational supplement*. Document. M100-S26, 28(1).

Comegna, M.; Guzmán, M.; Carmona, O. y Molina, M. 2000. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela- Nuevos hallazgos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 1(20):20-35.

Darweesh, M. 2017. Molecular characterization of ESBL gene in *Citrobacter* spp. and antibacterial activity of omega-3 against resistant isolates. *Current Issues Pharmacy and Medical Sciences*, 30(3):156-161.

Davari, B; Kalantar, E; Zahirnia, A. y Moosa-Kazemi, S. 2010. Frequency of resistance and susceptible bacteria isolated from houseflies. *Iran Journal of Arthropod-Borne Disease*, 4(2):50-55.

Del pino, A. y Garrido, A. 1996. Evaluación de puesta de *Ceratitis capitata* Wied., con temperaturas variables en campo y constantes en laboratorio. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 22:401-410.

Dolejska, M; Duskova, E; Rybarikova, J; Janoszowska, D; Roubalova, E; Dibdakova, K; Maceckova, G; Kohoutova, L; Literak, I; Smola, J. y Cizek, A. 2011. Plasmids carrying *bla<sub>CTX-M-1</sub>* and *qnr* genes in *Escherichia coli* isolates from an equine clinic and a horseback riding centre. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66:757-764.

Echeverría, P.; Harrison, B.; Tirapat, C y McFarland, A. 1983. Flies as a source of enteric pathogens in a rural village in Thailand. *Applied and Environmental Microbiology*, 46:32-36.

Erzinclioglu, Y. y Whitcombe, R. 1983. *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) in dung and causing myiasis in Oman. *Entomologist's Monthly Magazine*, 119:51-52.

Falcón, N.; Ortega, C.; Gorniak, S.; Villamil, L; Ríos, C. y Simón, M. 2010. El problema de la resistencia a antibióticos en salud pública. *Revista Sapuvet de Salud Pública*, 2:75-80.

Flores, V. y Dale, W. 1995. Un estudio sobre ecología de las moscas Sarcophagidae en la costa central peruana. *Revista Peruana de Entomología*, 38:13-17.

Forbes, B.; Sahm, D. y Wesiddefel, A. 2009. *Diagnóstico Microbiológico*. Editorial Médica Panamericana. Décima segunda edición. Argentina

Fotedar, R.; Banerjee, J.; Samantray, C. y Shrinivas. 1992. Vector potential of hospital houseflies with special reference to *Klebsiella* species. *Epidemiology and Infection*, 109:143-147.

Fotedar, R. 2001. Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) in the transmission of *Vibrio cholera* in India. *Acta Tropica*, 78:31-34.

Ghosh, P; Mahanti, A; Samanta, I; Joardar, S; Batabyal, K; Dey, S; Taraphder, S. y Isore, D. 2017. Occurrence of extended-spectrum cephalosporinase producing *Escherichia coli* in kuroiler birds. *Journal Veterinarski Arhiv*, 87(6):745-757.

Gonçalves, I; Dantas, R; Ferreira, M; Batistão, D; Gontijo, P. y Ribas, R. 2017. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: association with virulence genes and biofilm formation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48:211-217.

Graham, J.; Price, L.; Evans, S.; Graczyk, T. Y Silbergeld, E. 2009. Antibiotic resistant *enterococci* and *staphylococci* isolated from flies collected near confined poultry feeding operations. *Science of the Total Environment*, 407:2701-2710.

Greenberg, B. 1965. Flies and Disease. *Scientific American*. 213:92-99.

Grubel, P.; Hoffman, J.; Chong, F.; Burstein, N.; Mepani, C. y Cave, D. 1997. Vector potential of houseflies (*Musca domestica*) for *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Microbiology*, 35:1300-1303.

Guan, X.; Xue, X.; Liu, Y.; Wang, J.; Wang, Y.; Wang, K.; Jiang, H.; Zhang, L.; Yang, B.; Wang, N. y Pan, L. 2013. Plasmid-mediated quinolone resistance-current knowledge and future perspectives. *Journal of International Medical Research*, 41(1):20-30.

Guarner, F. 2007. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutrición Hospitalaria*, 22:9-14.

Guimarães, J.; Prado, P. y Buralli, G. 1978. Dispersal and distribution of three newly introduced species of *Chrysomya robineau-desvoidy* in Brazil (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 23:245-255.

Habeeb, M. y Mahdi, M. 2012. Mechanical transmission of bacteria via animal agents true fly species. *Advanced studies in biology*, 4(12):583-591.

Heath, R.; Epsky, N.; Midgarden, D. y Katsoyannos, B. 2004. Efficacy of 1,4-diaminobutane (putrescine) in a food-based synthetic attractant for capture of Mediterranean and Mexican fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 97:1126-1131.

Hemmatinezhad, B; Ommi, D; Hafshejani, T. y Khamesipour, F. 2015. Molecular detection and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* from houseflies (*Musca domestica*) in Iran. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 21:18.

Hernández-Escareño, J.; Rentería-Solís, Z.; Flores-Landaverde, L.; Hernández-Vidal, G.; Espinoza-Mata, A y Zárate-Ramos, J. 2012. Presencia de enterobacterias, *Listeria* spp., *Vibrio* spp. Y *Staphylococcus* en macerados de mosca doméstica (*Musca domestica* L.), colectada en diferentes sitios relacionados con algunas especies domesticas. *Revista Científica*, XXII, 2:128-134.

Jarlier, V.; Nicolas, M.; Fournier, G y Philippon, A. 1988. Extended broadspectrum-beta-lactamase conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(4):867-878.

Jordao, B y Terra, W. 1991. Regional distribution and substrate specificity of digestive enzymes involved in terminal digestion in *Musca domestica* hind-midguts. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 17:157-168.

Jørgensen, S; Søråas, A; Sundsfjord, A; Liestøl, K; Leegaard, T. y Jenum, P. 2017. Fecal carriage of extended spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* after urinary tract infection – A three year prospective cohort study. *Public Library of Science*, 12(3):1-15.

Keiding J. 1986. The housefly: biology and control. WHO Vector Control Series: 63.

Koneman, E.; Winn, W.; Allen, S.; Janda, W.; Procop, G.; Schreckerenberger, P. y Woods, G. 2008. *Diagnóstico Microbiológico*. Sexta Edición. Médica Panamericana

Krishnan, M.; Bharathiraja, C.; Pandiarajan, J.; Prasanna, V.; Rajendhran, J. y Gunasekaran, P. 2014. Insect gut microbiome- An unexploited reserve for biotechnological application. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1):16-21.

Kumarasamy, K; Toleman, M. y Walsh, T. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 10:597-602.

Kuzina, L; Peloquin, J; Vacek, D. y Miller, T. 2001. Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory Mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). *Current Microbiology*, 42:290-294.

Lastra, V.; Rivas, L.; Silva, F.; Ulloa, M.; Pinto, M. y Vidal, M. 2014. Detección de serinocarbenemasas de clase A y otros mecanismos de resistencia enzimática a  $\beta$ -lactámicos en cepas de enterobacterias con susceptibilidad disminuida a carbapenémicos, aisladas de pacientes de un hospital universitario de Santiago, Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 6(31):689-694.

Lazaro, J; Patel, P; Singh, K; Hsu, D. y Tineri, S. 2017. Wriggling infestation: Myiasis sepsis by *Myroides odoratus*. *Annals of Microbiology*, 1(1):1-3.

Lemos, F. y Terra, W. 1991. Digestion of bacteria and the role of midgut lysozyme in some insect larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100:265-268.

León, A.; Sánchez, J. y Wolff, M. 2009. Sinantropía de Calliphoridae (Diptera) del municipio La Pintada, Antioquia – Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(1):73-82.

Létoffé S, Audrain B, Bernier, S. Delepierre, M, y Ghigo, J. 2014. Aerial exposure to the bacterial volatile compound trimethylamine modifies antibiotic resistance of physically separated bacteria by raising culture medium pH. *American Society for Microbiology*, 5(1):3-9.

Levine, O. y Levine, M. 1991. Houseflies (*Musca domestica*) as mechanical vectors of shigellosis. *Reviews of Infectious Diseases*, 13:688-696.

Liria, J. 2006. Insectos de importancia forense en cadáveres de ratas, Carabobo-Venezuela. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*; 23:33-38.

Literak, I.; Dolejska, M.; Rybarikova, J.; Cizek, A.; Strejckova, P.; Vyskocilova, M.; Friedman, M y Klimes, J. 2009. Highly variable patterns of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolates from pigs, sympatric rodents, and flies. *Microbial Drug Resistance*, 15:229-237.

Liu, Y; Yang, Y; Zhao, F; Fan, X; Zhong, W; Qiao, D. y Cao, Y. 2013. Multi-drug resistant gram-negative enteric bacteria isolated from flies at chengdu airport, china. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 44(6):988-996.

Lomônaco, C. y Almeida, J. 1995. Estructura comunitária de dípteros muscóides da restinga de Jacarepaguá, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Entomología*, 39(4):891-896.

Lux, S; Vilardi, J; Liedo, P; Gaggl, K; Calcagno, G. y Munyiri, F. 2002. Effects of irradiation on the courtship behavior of medfly (Diptera: Tephritidae) mass reared for the sterile insect technique. *The Florida Entomologist*, 85:102-112.

MacFaddin, J. 2003. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Quinta edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires.

Macovei, L., y Zurek, L. 2006. Ecology of antibiotic resistance genes: characterization of enterococci from houseflies collected in food settings. *Applied and Environmental Microbiology*, 72:4028-4035.

Martínez, A; Robacker, D; García, J. y Esau, K. 1994. Laboratory and field olfactory attraction of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) to metabolites of bacterial species. *Florida Entomologist*, 77:117-126.

Martínez, E.; Duque, P.; Wolff, M. 2007. Succession pattern of carrion-feeding insects in Páramo, Colombia. *Forensic Science International*, 166:182-189.

Mavárez, M.; Espina, A.; Barrios, F. y Ferreira, J. 2005. La Entomología forense y el neotrópico. *Cuadernos de Medicina Forense*, 11:22-33.

Miriagou, V.; Cornaglia, G.; Edelstein, M.; Galani, I.; Giske, C.; Gniadkowski, M.; Malamou-Lada, E.; Martinez, L.; Navarro, F.; Nordmann, P.; Peixe, L.; Pournaras, S.; Rossolini, G.; Tsakris, A.; Vatopoulos, A. y Cantón, R. 2010. Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(2):112-122.

Mo, S; Kristoffersen, A; Sunde, M; Nødtvedt, A. y Norström, M. 2016. Risk factors for occurrence of cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in Norwegian broiler flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, 130:112-118.

Moissant, E.; Tkachuk, O. y Román, R. 2004. Detección de agentes bacterianos en adultos de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) recolectadas en Maracay, estado Aragua, Venezuela. *Entomotropica*, 3(19):161-164.

Moon, R. 2002. *Muscid flies* (Muscidae). In: *Medical and Veterinary Entomology*. Elsevier Science, San Diego, CA.

Morales, G, y Peláez, C. 2010. Evaluación cinética de los dípteros como indicadores de la evolución del proceso de compostaje. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 9(17):13-28.

Moreno, M.; Domínguez, L.; Teshager, T.; Herrero, M. y Concepción, M. 2000. Antibiotic resistance monitoring: The Spanish programme. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14:285-290.

Moriya, K.; Fujibayashi, T.; Yoshihara, T.; Matsuda, A.; Sumi, N.; Umezaki, N.; Kurahashi, H.; Agui, N.; Wada, A. y Watanabe, H. 1999. Verotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 carried by the housefly in Japan. *Medical and Veterinary Entomology*, 13:214-216.

Muñoz, D. y Rodríguez, R. 2015. Agentes bacterianos y parasitarios en adultos de la mosca común *Musca domestica* recolectadas en el peñón, estado sucre, Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 2(15):159-161.

Nayduch, D; Honko, A; Noblet, G. y Stutzenberger, F. 2001. Detection of *Aeromonas caviae* in the common housefly *Musca domestica* by culture and polymerase chain reaction. *Epidemiology and Infection*, 127:561.

Nazari, M; Mehrabi, T; Hosseini, S. y Alikhani, M. 2017. Bacterial contamination of adult house flies (*Musca domestica*) and sensitivity of these bacteria to various antibiotics, captured from Hamadan City, Iran. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(4):04-07.

Newell, P. y Douglas, A. 2014. Among-species interactions determine the impact of gut microbiota on nutrient allocation in *Drosophila melanogaster*. *Applied and Environmental Microbiology*, 80:788-796.

Núñez, J. y Liria J. 2014. Sucesión de la entomo fauna cadavérica a partir de un biomodelo con vísceras de res. *Salus*, 18:35-39.

Nuorteva, P. 1963. Synanthropy of blowflies (Diptera, Calliphoridae) in Finland. *Annales Entomologicae Fennicae*, 29:1-49.

Onwugamba, F; Fitzgerald, J; Rochon, K; Guardabassi, L; Alabi, A; Kühne, S; Grobusch, M. y Schaumburg, F. 2018. "The role of 'filth flies' in the spread of antimicrobial resistance". *Travel Medicine and Infectious Disease*". <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1477893918300371> (25/06/2017).

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2005. Perspectivas políticas de la OMS sobre medicamentos. La contención de la resistencia a los antimicrobianos. Ginebra

Palomino, C. y González, Y. 2014. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31(3):535-538.

Parvez, A; Marzan, M; Khatun, F; Ahmed, F; Mahmud, S. y Rahman, S. 2016. Isolation of multidrug resistant pathogenic bacteria from common flies in Dhaka, Bangladesh. *Journal of Entomology*, 13(4):141-147.

Pasterán, F.; Méndez, T.; Guerriero, L.; Rapoport, M. y Corso, M. 2009. Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(6):1631-1639.

Pérez, S. y Wolff, M. 2011. Muscidae (Insecta, Diptera): importancia y diversidad para Colombia. *Boletín del Museo Entomológico Francisco Luís Gallego*, 3(2):3-19.

Pérez, S.; Duque, P. y Wolff, M. 2005. Successional behaviour occurrence matrix of carrion-associated arthropods in the urban area of Medellín, Colombia. *Journal Forensic Science*, 50:448-454.

Petridis, M.; Bagdasarian, M.; Waldor, M. y Walker, E. 2006. Horizontal transfer of Shiga toxin and antibiotic resistance genes among *Escherichia coli* strains in house fly (Diptera: Muscidae) gut. *Journal of Medical Entomology*, 43:288-295.

Prescott, L. 2004. *Microbiología*. Quinta edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid-España.

Quiceno, J.; Bastidas, X.; Rojas, D. y Bayona, M. 2010. La mosca doméstica como portador de patógenos microbianos, en cinco cafeterías del norte de Bogotá. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 13(2):23-29.

Ranjbar, R; Izadi, M; Hafshejani, T. y Khamesipour, F. 2016. Molecular detection and antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* from house flies (*Musca domestica*) in kitchens, farms, hospitals and slaughterhouses. *Journal of Infection and Public Health*, 9:499-505.

Ridley EV, Wong AC, Westmiller S, Douglas AE. 2012. Impact of the resident microbiota on the nutritional phenotype of *Drosophila melanogaster*. *Public Library of Science*, 7:e36765.

Rodríguez, E. Gamboa, M. Hernández, F. y García, J. 2005. *Bacteriología General: Principios y Prácticas de Laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica.

Romera, E.; Arnaldos, I.; García, D. y González, D. 2003. Los Sarcophagidae (Insecta, Diptera) de un ecosistema cadavérico en el sureste de la Península Ibérica. *Anales de Biología*, 25:49-63.

Roschanski, N; Friese, A; von Salviati-Claudius, C; Hering, J; Kaesbohrer, A; Kreienbrock, L. y Roesler, U. 2017. Prevalence of carbapenemase producing Enterobacteriaceae isolated from German pig-fattening farms during the years 211–2013. *Veterinary Microbiology*, 200:124-129.

Rosef, O. y Kapperud, G. 1983. House flies (*Musca domestica*) as possible vectors of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45:381-383.

Ruiz, J.; Pons, M. y Gomes C. 2012. Transferable mechanisms of quinolone resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 40(3):196-203.

Rybarikova, J.; Dolejska, M.; Materna, D.; Literak, I. y Cizek, A. 2010. Phenotypic and genotypic characteristics of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from symbiotic flies, cattle and sympatric insectivorous house martins from a farm in the Czech Republic (2006 –2007). *Research in Veterinary Science*, 89:179-183.

SADEBAC-AAM. 2016. Caracterización fenotípica de la resistencia a los betalactámicos en *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp. <<http://www.amm.ar/novedades/consenso%20BNNF%20anexo.pdf>> (23/06/2016).

Samanta, I; Joardar, S; Mahanti, A; Bandyopadhyay, S; Sar, T y Dutta, T. 2015. Approaches to characterize extended spectrum beta-lactamase/beta-lactamase producing *Escherichia coli* in healthy organized *vis-a-vis* backyard farmed pigs in India. *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases*, 36:224-230.

Sasaki, T; Kobayashi, M. y Agui, N. 2000. Epidemiological potential of excretion and regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: muscidae) in the dissemination of *Escherichia coli* O157: H7 to food. *Journal of Medical Entomology*, 37:945-949.

Scott, H. y Lettig, K. 1962. Flies of Public Health Importance and their Control. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.

Sharon, G.; Segal, D; Ringo, J; Hefetz, A.; Zilber, I. y Rosenberg, E. 2010. Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 107:20051-20056.

Sherman, R. 2003. Maggot therapy for treating diabetic foot ulcers unresponsive to conventional therapy. *Diabetes Care*, 26:446-451.

Shewell, G. 1987. Family Calliphoridae, fauna of British India, London. *Manual of Neartic Diptera*, 28(2):1133–1145.

Shin, S.; Kim, S.; You, H.; Kim, B.; Kim, A.; Lee, K.; Yoon, J.; Ryu, J. y Lee, W. 2011. *Drosophila* microbiome modulates host developmental and metabolic homeostasis via insulin signaling. *Science*, 334:670-674.

Singer, R.; Finch, R.; Wegener, H.; Bywater, R.; Walters, J. y Lipsitch, M. 2003. Antibiotic resistance – The interplay between antibiotic use in animals and human beings. Forum. *The Lancet Infectious Diseases*, 3:47-52.

Soares, M; Iglesias, C. y Bland, J. 2009. Cost effectiveness analysis of larval therapy for leg ulcers. *British Medical Journal*, 338:825.

Solà, M; González, J; Cameron, K. Piedra, N; Cerdà, M. y Migura, L. 2015. Houseflies (*Musca domestica*) as vectors for extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* on Spanish broiler farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(11):3604-3611.

Songe, M; Hang'ombe, B; Knight, T. y Grace, D. 2017. Antimicrobial resistant enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in houseflies infesting fish in food markets in Zambia. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(21):2-21.

Staley, J.; y Konopka, A. 1985. Measurement of in situ activities of non photosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annual Review of Microbiology*, 39:321-346.

Sulaiman, S.; Othman, Z. y Aziz, A. 2000. Isolation of enteric pathogens from synanthropic flies trapped in downtown Kuala Lumpur. *Journal of Vector Ecology*, 25:114-117.

Terra, W.; Espinoza, F.; Ribeiro, A. y Ferreira, C. 1988. The larval midgut of the housefly (*Musca domestica*) - ultrastructure, fluid fluxes and ion secretion in relation to the organization of digestion. *Journal of Insect Physiology*, 34:463-472.

Terra, W. y Ferreira, C. 1994. Insect digestive enzymes - properties, compartmentalization and function. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 109:1-62.

Thomas, A. 2014. Dinámica estacional y espacial de las moscas verde-azules (Diptera: Calliphoridae) en un gradiente Urbano-Rural en los Altos Mirandinos venezolanos. Trabajo Postgrado. Centro de Estudios Avanzados IVIC. Miranda, Venezuela.

Trasmonte, A.; García, Y.; Humbría, L.; García, L.; Cazorla, D. 2009. Aislamiento de enterobacterias en la mosca común (*Musca domestica*) en Coro, estado Falcón, Venezuela. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. 49(2):275-281.

Usui, M.; Iwasa, T.; Fukuda, A.; Sato, T.; Okubo, T. y Tamura Y. 2013. The role of flies in spreading the extended-spectrum  $\beta$ -lactamase gene from cattle. *Microbial Drug Resistance*, 19:415-420.

Velásquez, Y. 2008. Checklist of arthropods associated with rat carrion in a montane locality of northern Venezuela. *Forensic Science International*, 174:67-69.

Vriesekoop, F. y Shaw, R. 2010. The Australian bush fly (*Musca vetustissima*) as a potential vector in the transmission of foodborne pathogens at outdoor eateries. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7:275-279.

Wang, Y; Zhang, R; Li, J; Wu, Z; Yin, W; Schwarz, S; Tyrrell, J; Zheng, Y; Wang, S; Shen, Z; Liu, Z; Liu, J; Lei, L; Li, M; Zhang, Q; Wu, C; Zhang, Q; Wu, Y; Walsh, T. y Shen, J. 2017. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nature Microbiology*, 2:16-260.

Wei, T; Hu, J; Miyanaga, K. y Tanji, Y. 2013. Comparative analysis of bacterial community and antibiotic resistant strains in different developmental stages of the housefly (*Musca domestica*). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97:1775-1783.

Weise, T.; Thürmer, A.; Brady, S.; Kai, M.; Daniel, R.; Gottschalk, G. y Piechulla, B. 2014. VOC emission of various *Serratia* species and isolates and genome analysis of *Serratia plymuthica* 4Rx13. *FEMS Microbiology Letters*, 352:45-53.

Wolff, M.; Uribe A.; Ortiz, A. y Duque, P. 2001. A preliminary study of forensic entomology in Medellín, Colombia. *Forensic Science International*, 120:53-59.

Zurek, L.; Schal, C. y Watson, D. 2000. Diversity and contribution of the intestinal bacterial community to the development of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) larvae. *Journal of Medical Entomology*, 37:924-928.

Zurek, L. y Ghosh, A. 2014. Insects represent a link between food animal farms and the urban environment for antibiotic resistance traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(12):3562-3567.

## ANEXOS

*Lucilia cuprina*



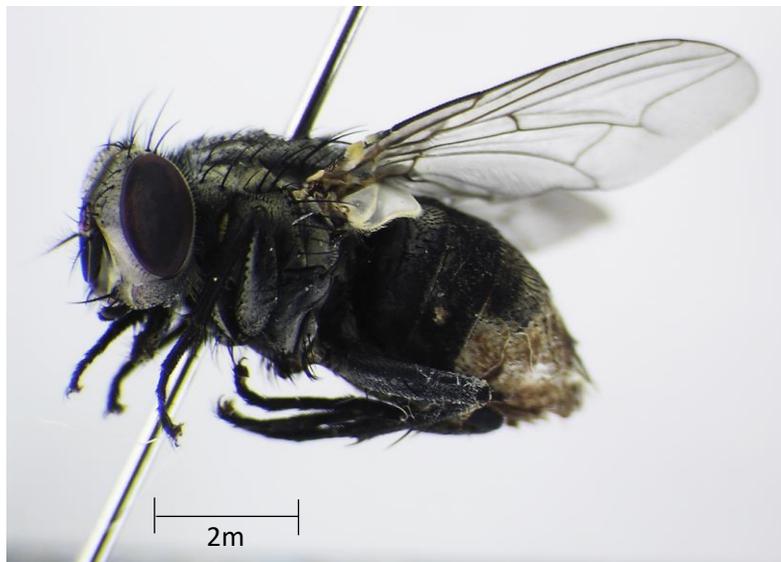
*Chrysomya albiceps*



*Musca domestica*



*Sarcophaga* Sp1



*Chrysomya rufifacies*



*Sarcophaga* Sp2



*Lucilia sericata*



*Calliphora vicina*



## HOJA DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	<b>EVALUACIÓN DE LAS MOSCAS COMO VECTORES MECÁNICOS DE DISEMINACIÓN DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS RESISTENTES A LOS ANTIBIÓTICOS</b>
---------------	--

### Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>Diaz valdiviezo, Dayana Carolina</b>	<b>CVLAC</b>	<b>V-18.415.200</b>
	<b>e-mail</b>	<b>Dayanadiz1403@gmail.com</b>

### Palabras o frases claves:

Diseminacion, moscas, vectores, bacterias Gram negativas, antibióticos, resistencia bacteriana, suceptibilidad, test de hogde, AmpC, BLEE, carbapenemasas.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Departamento de Bioanálisis

Resumen (abstract):

El propósito de este trabajo fue evaluar las moscas como vectores mecánicos de diseminación de bacterias Gram negativas resistentes a los antibióticos. Para ello, se colocaron trampas caseras con varios tipos de cebos para atrapar moscas en diferentes casas tanto en Cumaná como en Carúpano, estado sucre, durante los meses febrero a mayo de 2015. El cebo más atrayente fueron las vísceras de pescado en ambas ciudades. Las moscas aisladas en Cumaná fueron *Chrysomya albiceps*, *Lucilia cuprina*, *Sarcophaga* sp1 y *Musca domestica*. Mientras que en Carúpano se aislaron esas y además *Chrysomya rufifacies*, *Lucilia sericata*, *Calliphora vicina* y *Sarcophaga* sp2. Las bacterias Gram negativas que portaban las moscas fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Algunas cepas bacterianas fueron resistentes a betalactámicos por la producción de betalactamasas (BLEE, carbapenemasas y AmpC), susceptibilidad disminuida a Fluoroquinolonas y alto nivel de resistencia a cloranfenicol. Cuando se hizo la búsqueda de serino-carbapenemasas por métodos microbiológicos, se pudo determinar que la prueba de Hodge modificada fue negativa para todas las cepas probadas. Se demostró poca clonalidad por antibiotipificación de las cepas de *E. coli* aisladas de las moscas. En conclusión, la mayoría de las cepas de enterobacterias provenientes de las moscas poseen mecanismos de resistencia a los antibióticos de uso clínico humano (betalactámicos, fenicoles y quinolonas), imposibilitando su uso en caso de infecciones graves. Las cepas de *P. aeruginosa* tienen resistencia a todos los antibióticos probados.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
<b>Dra. Lorena Abadía-Patiño</b>	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	V-10.952.465
	e-mail	labadia@udo.edu.ve
<b>M. Sc. Sandra Díaz</b>	ROL	CA <input checked="" type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	V-10.947.336
	e-mail	andreinacumana@yahoo.es
<b>M. Sc. Diannys Martinez</b>	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	V-14.560.301
	e-mail	naitava@hotmail.com
<b>M. Sc. Melfran Herrera</b>	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	V-9.455.513
	e-mail	Melfranh@gmail.com

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2018	11	07
------	----	----

Lenguaje: SPA

**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6**

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-Diazd.doc	Application/Word

**Título o Grado asociado con el trabajo:** Licenciada en Bioanálisis

**Nivel Asociado con el Trabajo:**Licenciada

**Área de Estudio:** Bioanálisis

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:** Universidad de Oriente

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLAÑOS CUNPEL  
Secretario



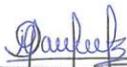
C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/marija

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6**

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) :** “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



Br. Dayana Carolina Díaz Vaidíviezo  
**Autor**



Dra. Lorena Abadía-Patiño  
**Asesor**



M. Sc. Sandra Díaz  
**Coasesor**