



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO



Facultad de Estudios Superiores
"Cuautitlán"

ESTUDIO DE LAS CUCARACHAS (Periplaneta americana y
Blattella germanica) COMO PORTADORES DE AGENTES
INFECCIOSOS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P R E S E N T A N:

**JULIO CAMARENA QUINTERO
JOVITA ONTIVEROS VAZQUEZ**

Asesores de Tesis: Q.F.I. Andrea A. Becerril Osnaya
M.V.Z. Juan Pablo Martínez Labat



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

Contenido	Página
- Resumen	2
- Abreviaturas	4
I.- Introducción	6
(A) Las cucarachas	
Ciclo de vida	7
Hábitos	12
Especies de importancia sanitaria	13
Las cucarachas como vectores	14
(B) Familia Enterobacteriaceae	
Generalidades	18
Identificación	19
(C) <u>Toxocara canis</u>	22
Síndrome Larva Migrans Visceral	23
Etiología	24
Epidemiología, Patogenia y Cuadro clínico	26
Diagnóstico y Tratamiento	27
- Planteamiento del problema	28
II.- Hipótesis	29
III.- Objetivos	29
IV.- Materiales y Métodos	30
V.- Resultados	41
VI.- Discusión	58
VII.- Conclusiones	66
VIII.- Bibliografía	67

R E S U M E N

Las cucarachas no han sido irrefutablemente asociadas en la transmisión de agentes patógenos, pero como cualquier insecto que vive en estrecha relación con los humanos, representa un grave problema de salud; considerando que estos artrópodos pueden alimentarse de materia fecal humana o animal deben ubicarse como potenciales vectores mecánicos de enfermedades.

En la primera parte del presente trabajo se analizaron lotes de cucarachas procedentes de las instalaciones del sistema del transporte colectivo, de la Unidad de Posgrado de la FES-C, del Hospital de Traumatología de Lomas Verdes y de una tortillería en el Estado de México; a cada uno se le realizó un análisis bacteriológico, obteniéndose un total de 98 aislamientos microbiológicos; de 13 géneros identificados, 10 pertenecieron a la familia Enterobacteriaceae, mientras que los 3 restantes fueron bacterias no fermentadoras de la glucosa. Mediante una prueba de Ji-cuadrada se logró establecer que los aislamientos bacterianos realizados se presentaron en función del medio ambiente del que procedía cada lote.

En la segunda parte se realizó un cultivo de huevos de Toxocara canis obtenidos del nemátodo en cuestión; cuando los huevos alcanzaron el estado larvado, se prepararon bloques de gelatina que representó la única opción de alimento y que

contenian dosis infectantes para las cucarachas de acuerdo a los lotes formados, observandose que bajo estas condiciones experimentales las cucarachas son capaces de desalojar en heces huevos larvados, no larvados, eclosionados y larvas libres de Toxocara canis por espacio de 12 días, lo cual las coloca como posibles diseminadoras de la toxocariasis. Además se puede establecer a la cucaracha como hospedero paraténico del parásito en cuestión, ya que mediante el análisis de cavidades de los insectos, se registró la presencia de larvas que penetraron en intestino de las cucarachas.

A B R E V I A T U R A S

Larva migrans visceral	LMV
Análisis inmunosorbente ligado a enzimas	ELISA
Solución salina fisiológica estéril	SSFE
Agar Salmonella-Shigella	SS
Agar sulfito bismuto	SB
Agar Xilosa lisina desoxicolato	XLD
Agar MacConkey	MC
Revoluciones por minuto	rpm
Microorganismo	m.o.
Hipótesis nula	Ho
Hipótesis alternativa	Hi
Grados de libertad	gl , GL
Diferencia Mínima Significativa	DMS
Diferencia Mínima Significativa Honesta	DMSH
Suma de cuadrados	SC
Cuadrados medios	CM
F calculada	Fc
F de tablas	Ft
Catalasa	CAT
Oxidasa	OXI
Rojo de metilo	RM
Voges Proskaver	VP
Citratos	CIT

Lisina descarboxilasa	LDC
Ornitina descarboxilasa	ODC
Arginina dehidrolasa	ADH
Motilidad	Mot.
Gelatinasa	GEL
Oxidativo-fermentativo	OF
Lactosa	LAC
Manosa	MAN
Inositol	INO
Sorbitol	SOR
Arabinosa	ARA
Rhamnosa	RHAM
Melibiosa	MEL
O-nitrofenil-beta-galactopiranosido	ONPG
Agar triple azúcar hierro	TSI

I.- INTRODUCCION.

(A) LAS CUCARACHAS.

La cucaracha es uno de los insectos más antiguos que se conocen. El término "cucaracha" parece provenir del latín cocum, igual a grano o semilla, y la terminación acha, del italiano accio, que significa bajo o despreciable. Forman un grupo antiguo que en los estratos de la época pensilvaniense son tan abundantes los blátidos fósiles que esta ha sido llamada "edad de las cucarachas". Fueron muy abundantes en los pantanos y se cree por tal motivo que el insecto desarrolló un excelente sistema inmunitario de defensa contra los microorganismos. (26).

Su posición taxonómica ha sido objeto de considerables desacuerdos, pero recientemente se colocan junto con los mántidos en los Dictyoptera como orden aparte o como un suborden de la Orthoptera. La evidencia indica una relación estrecha, probablemente ancestral, con las termitas. (17).

Hasta el momento se han catalogado cerca de 3500 especies de cucarachas, sin embargo, menos del 1%, tienen una tendencia definitiva hacia la consideración de las formas asociadas al hombre (sinantrópicas, domésticas, domiciliarias). Casi todas son de vida silvestre en los bosques húmedos y tropicales y de hábitos diurnos. Por el contrario las cucarachas domésticas representan una plaga de hábitos nocturnos y de fototropismo negativo. (8,17).

Por lo general, las cucarachas son aplanadas dorsoventralmente y con un integumento liso (algunas veces piloso); variando en color, desde un café castaño hasta el negro en las especies que más invaden los hogares como plaga. Las antenas prominentes son filiformes y multiarticuladas. Las partes bucales son del tipo generalizado mordedoras-masticadoras (tipo ortóptero), gracias a las mandíbulas, maxilas y labium que presentan. En la mayoría de las especies hay dos pares de alas, ambos tienen muchas venas y un gran número de estas son transversas; el par interior más estrecho, engrosado y coriáceo o apergaminado, llamado tégmenes, sirve principalmente como cubierta para el par posterior cuando no vuela; el par posterior es delgado, mucho más grande, usado principalmente durante el vuelo, plegadas en forma de abanico cuando no se emplean. Muchas especies tienen alas rudimentarias o carecen de ellas. El prototórax es grande y oculta gran parte de la cabeza. El abdomen es grande, muy segmentado y lleva un par de cercos apicales. Su tubo digestivo contiene una flora bacteriana y fauna microscópica tan rica y variada que no hay microorganismo que no esté ahí representado. (8,11,17,26,27).

CICLO DE VIDA.

En la cucaracha, los hábitos relativos a la reproducción son excepcionales, y de aquí se derivan: (a) ovíparos, como Periplaneta americana, Periplaneta australasia y Periplaneta

brunnea, que son las especies más primitivas, en donde la hembra abandona la ovoteca con el contenido de agua y vitelo necesario para el desarrollo embrionario; (b) ovoviviparos, como Blattella germanica, en las que los huevos contienen el vitelo requerido pero no el agua necesaria para su desarrollo; la madre transporta externamente la ovoteca durante el periodo embrionario para proporcionar agua al huevo; inmediatamente después del desprendimiento de la ovoteca nacen las crías; y (c) viviparos, tales como Pycnoscelus, Leucophaea, Blaberus y Panchlora, géneros más evolucionados en los que los huevos son mantenidos en el útero materno, donde reciben los nutrientes para la maduración de los embriones hasta que nacen las crías. (26).

Durante la vida adulta (promedio de cuatro meses), una hembra generalmente copula una sola vez y produce 15 ovotecas por término medio. El número de huevos en cada cápsula varía dependiendo de la especie. En P. americana el número de huevos es de 16 +/- 2, unos 16 en Blatta orientalis y un promedio de 40 en Blattella germanica. Las ovotecas son bastante diferenciables y se pueden utilizar como ayuda para determinar cuales especies están infestando una zona. (fig.1). (17,19,26).

En las figuras 2 y 3 se muestran claves gráficas para identificar las cucarachas de las especies domésticas y silvestres más comunes en las zonas intertropicales de las Américas. (26).

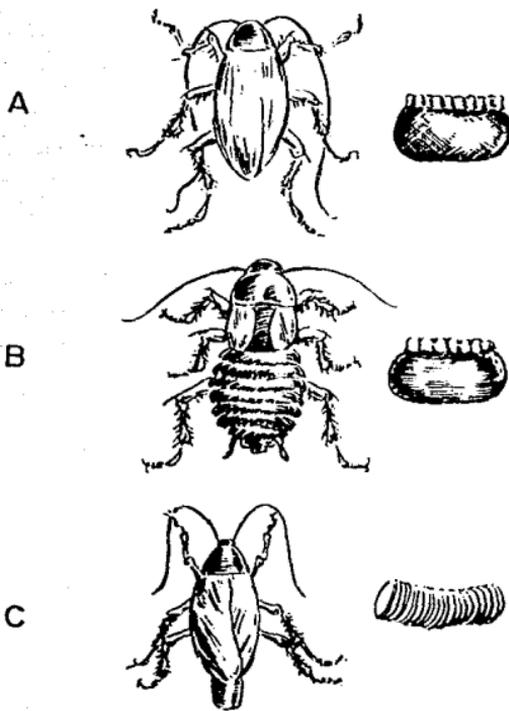
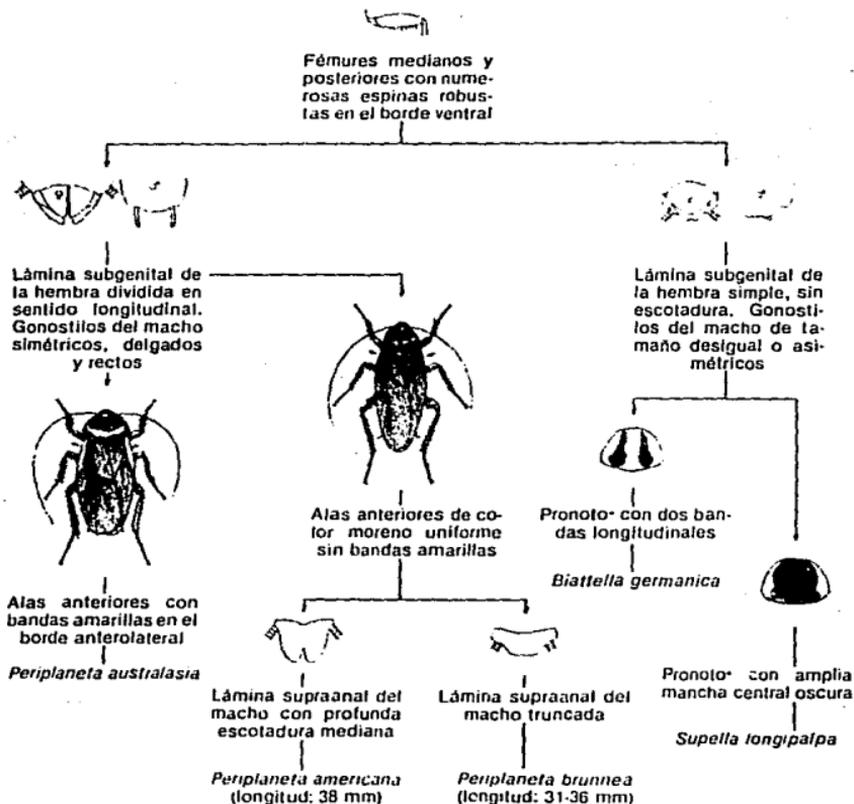


FIGURA 1. Tipos de cucarachas y ovotecas comúnmente encontradas en zonas infestadas. A, cucaracha americana, *Periplaneta americana*; B, cucaracha oriental, *Blattella orientalis*; C, cucaracha germana, *Blattella germanica*. Tomado de How to know the insects. (19).

Figura 2

Clave gráfica para identificar los adultos de las cucarachas domésticas más comunes en la región intertropical del continente americano (dibujo original del autor)

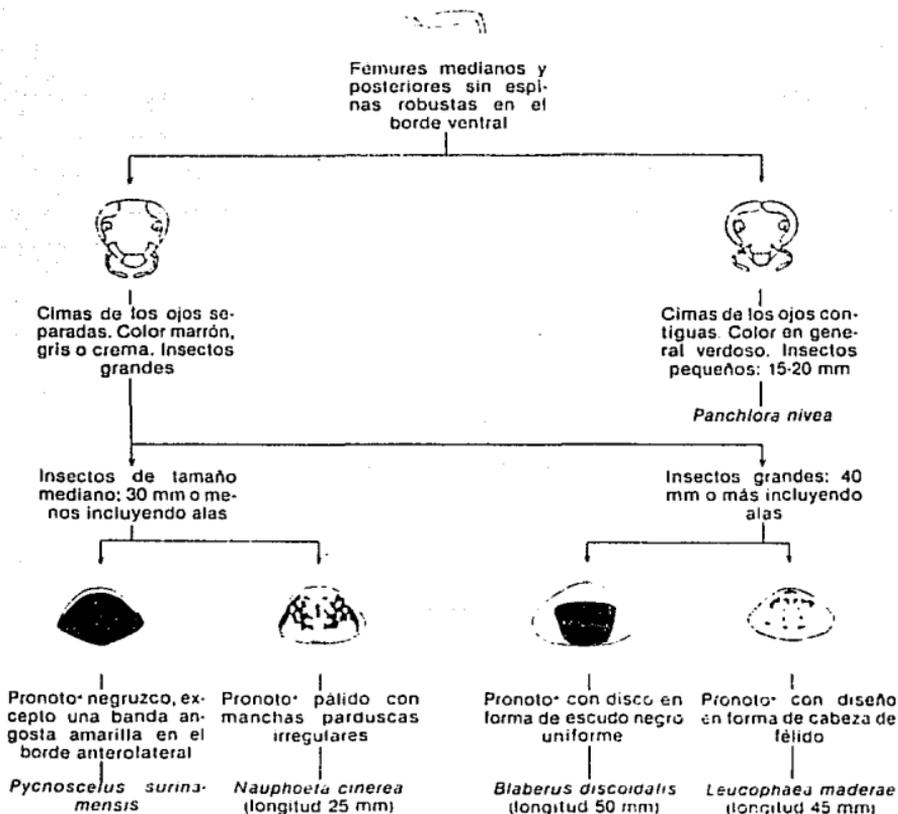


* El pronoto es la parte dorsal o superior del protórax (el tórax de los insectos se divide en protórax, mesotórax y metatórax).

Tomado de *Infectología* 9 (13) 1989.

Figura 3

Clave gráfica para identificar los adultos de las cucarachas silvestres más comunes en la región intertropical del continente americano (dibujo original del autor)



* El pronoto es la parte dorsal o superior del protórax (el tórax de los insectos se divide en protórax, mesotórax y metatórax).

Tomado de *Infectología* 9 (13) 1989.

La duración del periodo de incubación varia con la temperatura y la humedad. Al eclosionar, las ninfas de cucarachas están casi sin alas; entonces e inmediatamente después de cada muda son casi blancas. La metamorfosis es gradual o incompleta (insectos paurometábolos). Esto significa que pasan por tres estadios: huevo, ninfa con 6 intermudas y adulto. La primera exuvia se desecha al emerger, la segunda muda en tres o cuatro semanas, es seguida por otras hasta alcanzar la madurez. P. americana llega a la madurez en 285 a 642 días, aunque se ha citado un desarrollo de 971 días. El periodo de Blatta orientalis es de casi un año y más corto para Blattella germanica (de 2 a 3 meses) permitiendo el desarrollo de dos o más generaciones para esta especie. (17).

HABITOS.

Todos los estadios inmaduros pueden encontrarse agregados en asociación con los adultos; en especies como B. germanica y P. americana, una feromona de agregación, presente en las heces y sobre el cuerpo del insecto, es la responsable de dicha agregación. Las cucarachas son omnivoras ya que se alimentan de gran variedad de materiales, de preferencia que contengan almidón y azúcares. Ingieren leche, queso, carnes, pasteles, granos, etc., de hecho ningún material comestible que el hombre pueda ingerir está exento de contaminación por estos insectos, que también se alimentan libremente de libros, sus propias exuvias, sus parientes muertos o heridos, sangre, excremento, esputo, uñas de personas dormidas, enfermas o comatosas y cadáveres.

Habitualmente regurgitan a intervalos porciones de sus alimentos parcialmente digeridos y dejan caer heces por donde quiera que van. También arrojan una secreción nauseabunda por la boca y por las aberturas glandulares del cuerpo, dando un olor persistente y típico algo mohoso de "cucaracha" más ofensivo en algunas especies, a los alimentos y vajillas con las que se ponen en contacto. (9,17,26).

La mayoría de las cucarachas son lucifugas y de hábitos esencialmente nocturnos y se esconden en lugares oscuros durante el día. Espacios muy pequeños, rajaduras estrechas y áreas oscuras y húmedas son especialmente adecuadas para el cuerpo aplanado del insecto. Escondrijos fuera de las casas pueden proporcionar escondites temporales desde los cuales pueden entrar a las viviendas, comercios, restaurantes y otros edificios. Más de una especie puede establecerse en los sistemas de drenaje. (17,26).

ESPECIES DE IMPORTANCIA SANITARIA.

Estas son las llamadas especies domiciliarias, domésticas o sinantrópicas, que se han adaptado a vivir en estrecha relación con el hombre en viviendas, restaurantes, cocinas, tiendas, asilos, sótanos, sistemas de drenaje, en donde se les proporciona alimento, humedad y escondite; transportan contaminantes a los alimentos del hombre, contaminan el aire con sus alérgenos,

producen olores desagradables característicos y estéticamente degradan el ambiente. (17).

Las cucarachas que actúan como vectores naturales y experimentales en las viviendas son: P. americana, B. germanica y B. orientalis y fuera de las casas Pycnoscelus surinamensis, Blaberus discoidales y Leucophaea maderae. Estas especies han sido ampliamente distribuidas por el intercambio marítimo de los trópicos húmedos y cálidos hacia las zonas templadas; las bodegas de los buques, fogones y dormitorios de la tripulación en ocasiones están invadidos por ellas. (27).

LAS CUCARACHAS COMO VECTORES.

Las cucarachas nunca han sido asociadas en la transmisión de organismos patógenos para el hombre. Sin embargo no se puede negar que, en ciertas circunstancias, tengan esta capacidad. La evidencia, aunque circunstancial, es tan fuerte como la generalmente aceptada en otros casos de transmisión mecánica, en torno a esto se puede asumir lo siguiente: (1) Las cucarachas prefieren ambientes donde se encuentran tanto los patógenos humanos como el alimento y pasan libremente de uno a otro y, (2) Pueden portar patógenos tanto en el interior como en el exterior de su cuerpo, dichos patógenos pueden permanecer viables sobre la cutícula, en el tracto digestivo y heces a tal grado que los insectos pueden ser portadores crónicos. (8,11,17).

En condiciones naturales, se han encontrado en las cucarachas hasta cuarenta especies de bacterias patógenas, muchas de las cuales se han transmitido experimentalmente. (9). Entre las enfermedades causadas por bacterias figuran diversos cuadros de disenteria, gastroenteritis, diarrea, fiebre tifoidea, peste, gangrena y lepra. Otras enfermedades de origen bacteriano que estos insectos pueden transmitir experimentalmente son el cólera asiático, la meningitis meningocócica, neumonías, difteria, brucelosis, carbunco, tetanos y tuberculosis. Bajo estas condiciones se ha demostrado que las cucarachas acarrean estos agentes patógenos sin que se multipliquen en ellas. Los patógenos se manifiestan en el excremento durante periodos de varios días sin disminuir su virulencia. (26).

Dentro de los microorganismos facultativos más comúnmente aislados en una gran variedad de medios están: Klebsiella oxytoca, Enterobacter agglomerans, Citrobacter freundii. Especies de Serratia y Streptococcus son también frecuentemente aisladas (10); así como Proteus vulgaris, Acinetobacter anitratus y Hafnia spp. (8).

Es indudable que el grupo de las salmonelas ocupa el primer lugar entre los microorganismos causales de infecciones humanas transmitidas por las cucarachas. Salmonella anatum y S. oranienburg fueron aisladas en 6298 especímenes de P.americana en Estados Unidos, Salmonella typhosa se pudo recuperar de heces

del insecto 5 o 6 días después de la comida infectante y Shigella flexneri hasta 13 días después. Se constató que S. oranienburg permaneció viable durante 140 días en las heces de P. americana. (26).

Del intestino posterior y la superficie externa de las cucarachas domésticas capturadas de cañerías, hospitales y cloacas en Londres se aislaron las siguientes especies de bacterias: E. coli, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens y Pseudomona aeruginosa y también varias especies de Proteus. Estos estudios demuestran que aun después de muertas pueden permanecer como fuente de infección. (26).

Se sabe que las cucarachas pueden albergar en su aparato digestivo diversos helmintos, algunos de ellos parásitos del hombre y otro vertebrados. (26). Estos representan después de las bacterias el grupo más importante de organismos patógenos transmitidos por las cucarachas. (17). En condiciones naturales, en las cucarachas pueden desarrollarse ciertas especies de Acantocéfalos como la larva de Moniliformis moniliformis que se encuentra dentro del hemocele de P. americana que es su hospedero intermediario usual. (18).

Se han señalado cinco protozoarios patógenos del hombre de los cuales pueden ser portadoras las cucarachas, se trata de: Balantidium coli, Entamoeba histolytica, Giardia intestinalis,

Trypanosoma cruzi y Toxoplasma gondii (17,26); este último merece especial atención ya que causa la toxoplasmosis en el hombre y en una amplia gama de mamíferos y aves. (12).

(B) FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE.

GENERALIDADES.

Las bacterias pertenecientes a esta familia son las que se aislan con mayor frecuencia de las muestras clínicas. Son bacilos gramnegativos capaces de desarrollarse en todos los medios para crecimiento y forman colonias distintivas en los medios selectivos que dependen de sus propiedades metabólicas y de los componentes del medio. Algunas especies son patógenos clásicos y su sola presencia las señala como agentes etiológicos de enfermedad, independientemente del número de unidades formadoras de colonias detectadas (como Salmonella, Shigella y Yersinia). Otras especies pueden colonizar al ser humano sin estimular ninguna patología como las Enterobacteriaceae que colonizan el tracto intestinal. Si estos microorganismos "comensales" son introducidos en algún sitio susceptible (cavidad peritoneal, pulmones de algún hospedero inmunosuprimido, líquido cefalorraquídeo, etc.) son capaces de provocar enfermedad. Otras especies como E. coli están asociadas con ciertos síndromes que se deben a factores de virulencia. (2,3).

Las Enterobacteriaceae constituyen la flora facultativa predominante en el intestino humano, desde donde pueden diseminarse fácilmente. La falta de higiene personal, sobre todo durante el periodo de una diarrea pueden contribuir en la transmisión oro-fecal de los agentes de gastroenteritis y

enfermedades relacionadas. Los países con malos sistemas sanitarios es probable que tengan reservorios ambientales de enterobacterias, a partir de los cuales se mantiene la enfermedad en la población. Los pacientes hospitalizados son colonizados rápidamente en la piel o tracto respiratorio por cepas endémicas del hospital que así tienen acceso a hospederos con distintos tipos de deficiencias. (2,3).

Además de su presencia en la flora fecal normal las enterobacterias se encuentran distribuidas mundialmente en hábitats naturales como suelos, agua, plantas, peces, insectos y otros animales. Su importancia como patógenos humanos por lo menos es equivalente a su incidencia como agentes de enfermedades en aves, ganado, peces y varios cultivos de vegetales y plantas.

IDENTIFICACION.

La identificación de las enterobacterias hasta el nivel de especie es tan importante desde el punto de vista epidemiológico como clínico. Las características de sensibilidad de muchas especies son predecibles, permitiendo al clínico elegir la terapia sobre la base de la identificación del aislamiento. La asociación de ciertas especies con síndromes conocidos puede ayudar al clínico a establecer una etiología en circunstancias en las cuales se ha detectado un aislamiento determinado. (2).

En los últimos años el número de especies conocidas de enterobacterias aumentó de 26 a más de 100 (se han determinado más de 70 especies) y mensualmente se detectan otras nuevas. (14).

Esta rápida expansión ha resultado abrumadora para los microbiólogos clínicos, quienes no son taxónomos y sólo desean proporcionar información útil a los clínicos referente a las especies aisladas de los materiales de los enfermos. La capacidad de la mayoría de los laboratorios para identificar las especies recientemente reconocidas de enterobacterias se debe principalmente a la existencia de sistemas de pruebas multibioquímicas y enzimáticas producidas en el comercio. (2).

Durante los últimos años se han introducido diversas modificaciones en las pruebas bioquímicas convencionales para facilitar la inoculación de los medios, disminuir el tiempo de incubación, automatizar el procedimiento o sistematizar la determinación de las especies según las reacciones obtenidas.

En un sistema de identificación que cobró gran difusión, los medios para las reacciones bioquímicas convencionales se fraccionaron en pequeños volúmenes y se envasaron de modo que la inoculación fuera fácil y con una sola manipulación. (21).

El API 20E para la identificación de bacilos gram negativos incorpora reactivos liofilizados en cavidades plásticas dentro de las cuales se coloca una suspensión de microorganismos en estudio. Los sistemas API han sido adoptados por un gran número de laboratorios desde el momento de su introducción a fin de la década del setenta debido a una amplia base de datos generada por computadora que incorpora los resultados de 21 pruebas

(incluyendo la reacción para oxidasa); el uso del sistema API 20E para la identificación de enterobacterias ha facilitado el reconocimiento de varias especies nuevas y ha permitido que los laboratorios designaran las especies en forma más precisa de lo que era posible anteriormente, en función de la relación costo eficiencia. (2).

(C) Toxocara canis.

Toxocara canis es un gusano parásito cosmopolita de los perros y pertenece a la clase nemátoda. (10).

Muchos de los parásitos humanos pertenecen a la clase nemátoda. Son gusanos cilíndricos alargados no segmentados con una cavidad no tapizada de peritoneo de origen mesodérmico como en los animales superiores. Generalmente los sexos están separados, y el macho y la hembra suelen tener morfología muy diferente. En algunas formas parásitas hay partenogénesis y proterandria. Los nemátodos de vida libre se encuentran entre los animales que más abundan, y en una amplia variedad de hábitats. También son abundantes las especies parásitas de animales y plantas. Los nemátodos son importantes como agentes patógenos en casi todos los animales domésticos, y la mayoría de los humanos están infectados por uno o más de ellos.

La estructura de los nemátodos que parasitan al hombre varía considerablemente y, sólo por lo que respecta a su tamaño existen especies demasiado pequeñas para percibirse a simple vista, y otras que tienen más del metro de longitud. Sus ciclos biológicos también varían desde formas sencillas de desarrollo directo, hasta aquellas que necesitan varios hospederos. (15).

En lo que respecta a Toxocara canis, en regiones endémicas los cachorros están generalmente infectados al nacer y aunque

muchos mueren de la infección en las primeras semanas de vida, si sobreviven adquieren al parecer una inmunidad considerable a la infección. El gusano macho mide de 4-6 cm de largo, y las hembras de 6.5-10 cm. Los huevos casi esféricos, tienen muchos hoyuelos en la superficie y miden 85 X 75 micrómetros. Son de color café oscuro o café grisáceo y no están embrionados al ser expulsados.

La importancia de las infecciones por larva de Toxogara canis en el hospedero humano se estudia bajo el epigrafe de "Larva Migrans Visceral" (LMV). (10).

SINDROME DE LARVA MIGRANS VISCERAL.

Es un cuadro producido por larvas de nemátodos que logran invadir las vísceras extraintestinales de hospederos no naturales y naturales, lo que tiene por resultado el ataque de las larvas por células fagocitarias, que las aíslan en lesiones granulomatosas típicas. Se sugiere que la definición de LMV se limite a incluir únicamente a la migración prolongada y la larga permanencia de larvas cuya conducta se asemeje claramente a los hospederos normales o a los hospederos paraténicos. (6).

ETIOLOGIA.

Hasta la fecha el agente específicamente asociado con la enfermedad es el ascárido de perro Toxocara canis. Cuando hospederos incompatibles como el hombre ingieren huevos en estado infectante que contienen una larva del segundo estadio de estos nemátodos, dichos huevos eclosionan en la parte alta del intestino delgado, y las larvas liberadas invaden la pared intestinal, logran entrar en las vénulas mesentéricas o en los linfáticos y son llevadas hacia las vísceras extraintestinales. En los capilares del hígado y menos frecuentemente en los de los pulmones, cerebro y globo ocular, otras vísceras y tejido muscular, las larvas ven bloqueada su migración por una reacción celular. En los hospederos no naturales estas larvas no mudan ni crecen pero permanecen vivas por unas semanas o meses dentro de la cápsula celular producida por el hospedero. Esta larga persistencia de las larvas antes y después de la encapsulación, así como la eventual ausencia de inflamación en torno a la larva encapsulada, puede indicar que esta reacción está controlada por el parásito y que fué inducida para proporcionarle confort y nutrición, y no ser un mecanismo de defensa por parte del hospedero. Por tanto las larvas de Toxocara canis que logran llegar a las vísceras extraintestinales del hombre son incapaces de completar su migración de regreso al intestino, y el Toxocara canis no tiene la oportunidad de madurar en el intestino del hombre. Fig. 4. (10,13,20,28).

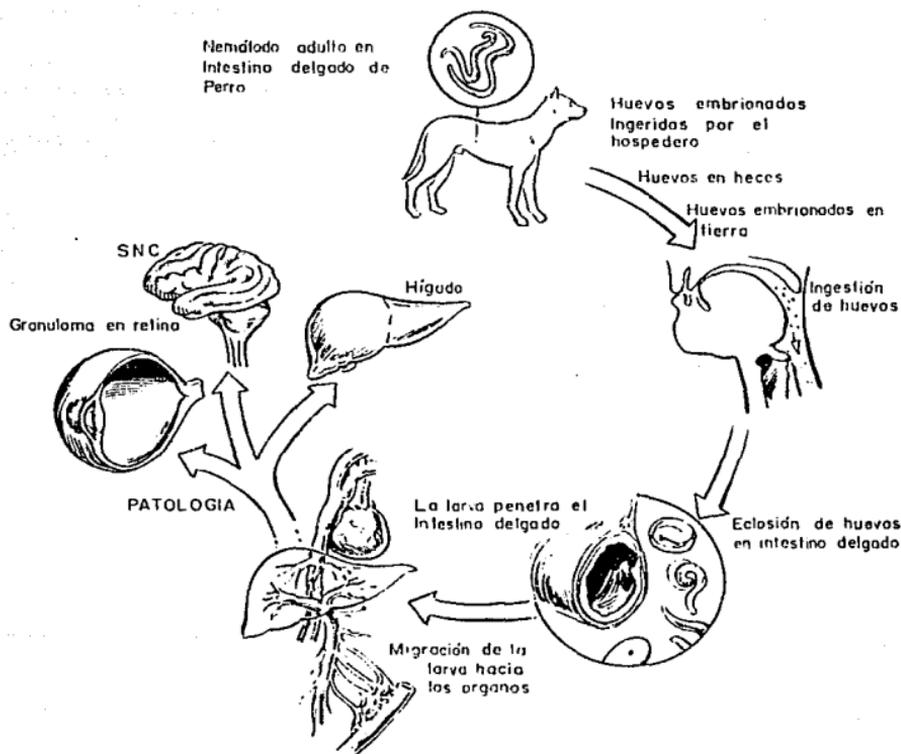


FIGURA 4. Ciclo de Toxocara canis en humano.
Tomado de Parasitic Diseases. (20).

EPIDEMIOLOGIA.

Donde quiera que hay animales infectados con Toxocara canis, los huevos de este nemátodo son sembrados en el suelo con las excretas de sus hospederos, desarrollandose en él, hasta el estadio infectante y sirviendo de inóculo para los seres humanos. Si se considera que los niños pequeños que viven en dicho ambiente generalmente juegan en el suelo contaminado y se llevan la suciedad a la boca, este grupo de edad es el más expuesto a la infestación. (16,28).

PATOGENIA Y CUADRO CLINICO.

En las infecciones por Toxocara canis el número de lesiones granulomatosas producidas está directamente relacionada con el número de huevos ingeridos en estadio infectante y el de larvas liberadas que logran llegar a las vísceras extraintestinales. Por tanto, las lesiones pueden ser escasas o miliares.

La localización más común, y en la que se han encontrado mayor número de granulomas por Toxocara ya sea mediante biopsia o por necropsia, es el hígado, en donde las lesiones se detectan fácilmente como nódulos blanquesinos del tamaño de semillas de mijo. Otros órganos afectados son los pulmones, riñones, corazón, músculo estriado, cerebro y globo ocular. Las lesiones oculares tienen lugar principalmente en niños sin presentar evidencia de una lesión generalizada. Se han identificado tres tipos de

manifestaciones oculares: (a) Endoftalmitis crónica, (b) Granuloma retiniano solitario y, (c) Retinitis periférica.

El cuadro clínico varía desde un estado asintomático a excepción de una eosinofilia persistente, hasta el caracterizado por hipereosinofilia, hepatomegalia, enfermedad pulmonar, disfunción cardíaca, nefrosis, hiperglobulinemia y fiebre. tos, evidencia de lesiones cerebrales, lo que depende de la localización y número de granulomas. La reacción alérgica en los pulmones puede ser suficientemente grave como para dificultar la respiración. (10,28).

DIAGNOSTICO.

Aún cuando el cuadro clínico característico de hepatomegalia, asma bronquial y fiebre es altamente sugestivo en niños pequeños con LMV, el diagnóstico debe confirmarse mediante biopsia hepática o en material postmortem para demostrar la presencia de la larva en el granuloma, o simplemente la estructura histológica del mismo. Experimentalmente se emplea la prueba de ELISA para establecer títulos de anticuerpos específicos contra Toxocara canis. (10,31).

TRATAMIENTO.

Ninguno de los tratamientos específicos es efectivo en forma concluyente, pero se ha sugerido que el tiabendazol puede ser útil evitando la sobrevivencia y migración de larvas de Toxocara canis según estudios hechos en ratones. (1)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Todos los habitantes de un país están expuestos al riesgo de enfermar en relación directa con el grado de exposición a los distintos factores que favorecen la aparición de las enfermedades. En el caso de las enfermedades gastrointestinales, que en nuestro país ocupan los primeros lugares en las estadísticas de morbilidad y mortalidad; se sabe que son producidas por microorganismos capaces de ser transmitidos directamente de persona a persona, por agua y alimentos contaminados por materia fecal, provenientes de personas portadoras de bacterias y parásitos. Insectos como las cucarachas pueden actuar como vectores mecánicos y ser reservorios naturales de agentes patógenos, ya que están idealmente equipadas para acarrear gérmenes de una fuente infectada hacia materiales no contaminados, esto por medio de regurgitación de alimentos, por contacto con sus extremidades o por depósito de excremento. (25). El rol de la cucaracha como vector de enfermedades gastrointestinales se ve favorecido por sus tendencias coprófagas, es por ello, de gran interés el análisis de otras enfermedades causadas por contaminación fecal, como el síndrome de larva migrans visceral, causado por Toxocara canis. La toxocariasis es una infección primordialmente de cachorros de perro, pero adquiere importancia al manifestarse como una zoonosis. (16).

II.- HIPOTESIS.

En condiciones naturales o experimentales, las cucarachas actuarán como vectores o reservorios de agentes patógenos, en la medida en que estas se encuentren expuestas a una fuente de contaminación.

III.- OBJETIVOS.

- 1.- Analizar el papel de la cucaracha como vector de agentes patógenos de interés clínico.
- 2.- Aislar e identificar bacterias de integumento, tubo digestivo y excremento de cucarachas (Periplaneta americana y Blattella germanica) que puedan asociarse en determinado momento con problemas gastrointestinales.
- 3.- Estudiar experimentalmente el posible rol de las cucarachas (Periplaneta americana) como vector y hospedero paratenico de parásitos, empleando a Toxocara canis, agente causal del síndrome de "larva migrans visceral", como modelo.

IV.- MATERIALES Y METODOS.

(I) CUCARACHAS.

Los insectos se recolectaron manualmente de distintos sitios (estación del metro Chapultepec, Posgrado FES-C, tortillería en el Estado de México, Hospital de Traumatología en Lomas Verdes), usando guantes para cirugía; formándose diferentes lotes e identificándolos debidamente.

(II) CAJA PARA CUCARACHAS.

Se emplearon cajas de poliestireno transparente de 27 X 37 X 15 cm. La caja presenta orificios en los costados y en la tapa, actuando estos como respiraderos. La parte baja de la caja se perforó por uno de sus extremos de tal manera que se pudo insertar y retirar libremente una hoja de papel aluminio para la recolección fecal. Se fabricó un bastidor con malla de aluminio y este se empleó como plataforma para separar a las cucarachas del área de recolección fecal. Fig. 5. (5).



FIGURA 5. Caja para lotificar cucarachas.

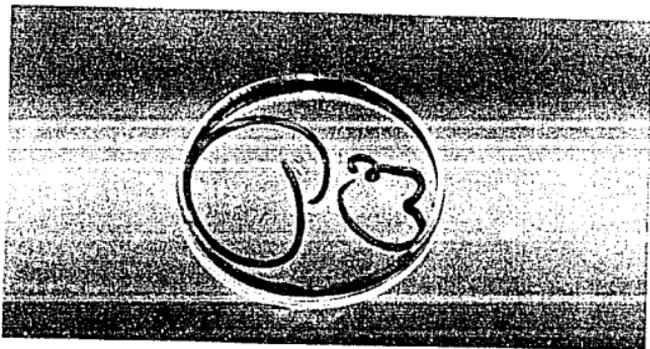


FIGURA 6. Nemátodos (*Toxocara canis*) recolectados en heces de perros infestados.

(III) ALIMENTACION Y CONSERVACION DE LAS CUCARACHAS.

Durante el periodo de experimentación las cucarachas se mantuvieron con alimento comercial para perro y agua. (28). Las cucarachas debidamente lotificadas se mantuvieron en una estufa bacteriológica a una temperatura templada (aproximadamente 26°C). En la estufa y fuera de las cajas se colocaron depósitos de agua para mantener húmedo el ambiente.

(IV) OBTENCION Y CULTIVO DE HUEVOS DE Toxocara canis.

El nemátodo se obtuvo de cachorros de perros infectados a quienes se les demostró la presencia de huevos de Toxocara canis mediante una prueba de flotación en una muestra de heces. Los cachorros infestados se trataron con piperacina durante dos días. Los nemátodos se separaron de las heces fecales y se conservaron en agua para posteriormente hacer la disección de las hembras.

La disección se practicó a la altura de la vulva y el tercio próximo a los úteros, cortando estos en pequeños trozos en una caja petri que contiene una pequeña cantidad de solución salina formolada al 1%. Los huevos se separaron de esta suspensión. El cultivo se completó con la incubación en una solución de formalina al 1% (32) durante tres semanas con agitación cada tercer día, logrando así, que los huevos alcancen un estado larvario.

ESQUEMA DE EXPERIMENTACION BACTERIOLOGICA

Un total de 65 cucarachas se recolectaron de 4 diferentes sitios, formandose igual número de lotes conformados como sigue: 10 especímenes de P. americana se capturaron en la estación del metro Chapultepec (Lote N^o 1); 25 insectos especie B. germanica se recolectaron en el edificio de posgrado de la FES-C, en el área de diagnóstico clínico (Lote N^o 2); 15 especímenes de B. germanica procedieron de una tortillería ubicada en la colonia Buenavista, Tultitlán Estado de México (Lote N^o 3) y; 15 artrópodos, B. germanica se obtuvieron del Hospital de Traumatología de Lomas Verdes (Lote N^o 4).

Del lote N^o 1 se trabajaron muestras de heces, lavado e intestino; mientras que para el resto de los lotes sólo macerado y lavado, las muestras se obtuvieron como sigue:

A la mañana siguiente de la captura, se tomó el lote de cucarachas y se colocó en un matraz estéril que contenía 10 ml de SSFE, se agitaron vigorosamente por espacio de 10 min para obtener el lavado de integumento. Con pinzas estériles se sacaron las cucarachas, conservándose el agua de lavado y se rotuló con la procedencia del lote, fecha y tipo de muestra.

Para trabajar paquete intestinal, se emplearon las cucarachas de las que se obtuvo el lavado. Se hizo una disección en condiciones estériles. Se retiraron las alas y patas, al igual

que la cabeza; se practicó un corte del abdomen hacia el ano para retirar el intestino completo. (4,8). Las muestras de intestino se pasaron a un mortero donde se maceraron en 10 ml de SSFE. La muestra se transfirió a un matraz estéril y se agitó vigorosamente por espacio de 10 min, esta solución se guardó y rotuló debidamente.

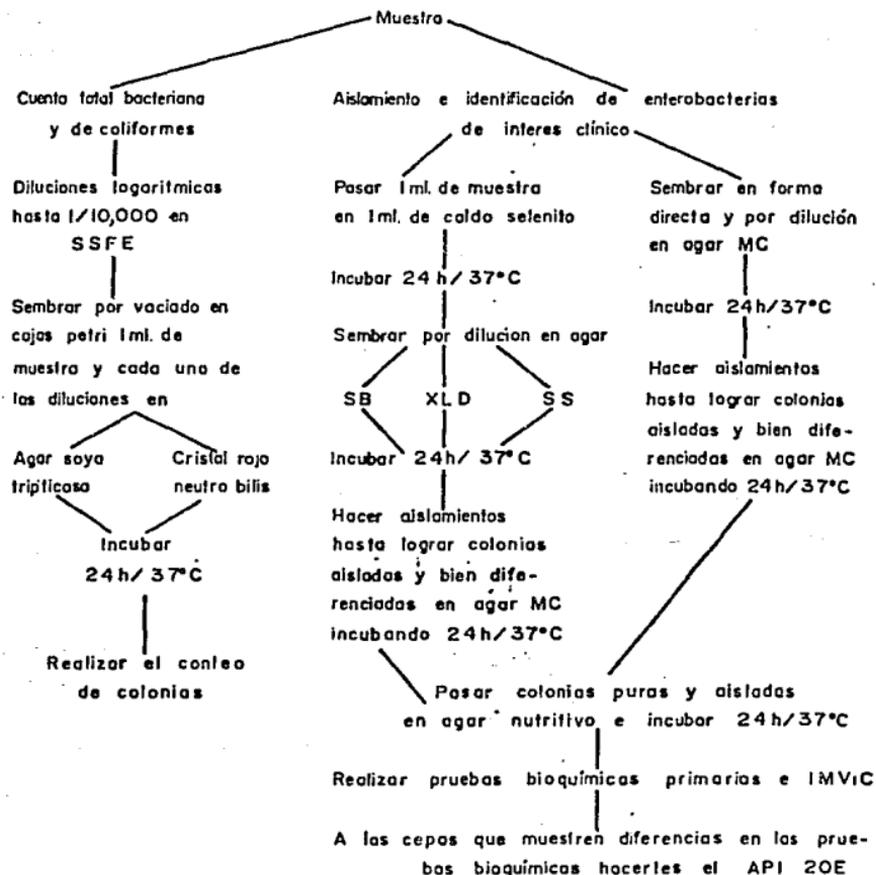
La muestra de heces se tomó directamente de la charola de recolección fecal, se pasó, para ser homogeneizada, a un mortero que contenía 10 ml de SSFE. El producto se depositó en un matraz estéril que se conservó y rotuló.

En el caso en donde se hizo macerado total de la cucaracha se procedió de igual forma que para la obtención de paquete intestinal.

Cada una de las muestras se trabajó según el diagrama de flujo presentado.

En el sistema API 20E se determinaron 21 pruebas bioquímicas estandarizadas, utilizándose de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Las colonias bien definidas crecidas en agar soya tripticasa, se emulsificaron en 5 ml de SSFE, hasta obtener una turbidez equivalente al estándar número uno del nefelómetro de MacFarland. La lectura se realizó dentro de las 18 a 24 horas siguientes a la incubación, agregando los reactivos según lo marca el fabricante.

FLUJOGRAMA DE EXPERIMENTACION BACTERIOLOGICA



ANALISIS DE RESULTADOS BACTERIOLOGICO.

Las pruebas bioquímicas realizadas en tubo y en el sistema API 20E se interpretaron en base a las tablas de identificación para Enterobacteriaceae, proporcionadas por Farmer et. al. (14), reportando género y especie de cada una de las bacterias aisladas.

El análisis de resultados se realizó con un estudio de ji-cuadrada para observar la significancia estadística de los datos obtenidos. (29).

ESQUEMA DE EXPERIMENTACION PARASITOLOGICA

Cuando los huevos alcanzaron el estado larvario, se determinó la viabilidad; calculando el volumen de liquido en el que se encontraba el cultivo, se homogeneizó y tomó una alicuota de 5 microlitros, la cual se examinó al microscopio (objetivo 10X) determinando el número de huevos presentes; así como el número de ellos que se encontraban en estado larvario, no larvado y los eclosionados. Esta determinación se hizo 10 veces, registrandose los valores para obtener un promedio y extrapolarlo al volumen total del cultivo.

De un grupo de 60 cucarachas recolectadas de la estación del metro Chapultepec se formaron 6 lotes de 10 elementos cada uno. Cada insecto se colocó en un frasco por separado. Los 60 frascos se mantuvieron en una estufa bacteriológica a una temperatura templada. Se les retiró el agua y alimento durante dos días previos al inicio de la inoculación.

Con los lotes formados y debidamente identificados, se trabajó de la siguiente manera:

- Lote 1. Se administraron 1000 huevos viables por cucaracha.
- Lote 2. Se administraron 2500 huevos viables por cucaracha.
- Lote 3. Se administraron 5000 huevos viables por cucaracha.
- Lote 4. Se administraron 10000 huevos viables por cucaracha.
- Lote 5. Se administraron 20000 huevos viables por cucaracha.
- Lote 6. Control.

La administración se hizo como sigue: de acuerdo al valor de viabilidad obtenido, se determinó en que volumen del cultivo estuvo contenido el número de huevos para las 10 cucarachas de los 5 diferentes lotes. Se tomó el volumen y se centrifugó a 500 rpm durante 5 min, para obtener una pastilla de huevos, eliminándose el sobrenadante.

Por otra parte se hirvieron 30 ml de agua, agregando 2 g de azúcar y 4.5 g de grenetina; se agitó y disolvió para formar una gelatina. En recipientes de plástico se colocaron por separado cada una de las pastillas de huevos y se agregaron 5 ml de gelatina casi a punto de solidificar, se homogeneizó para dispersar los huevos. Se dejó solidificar la gelatina a temperatura ambiente. Se repartió en 10 partes iguales, dándole una a cada cucaracha como única opción de alimento. Al lote control se le dió gelatina sin huevos de Toxocara canis.

El análisis de las muestras de heces se llevó a cabo periódicamente desde un día previo a la exposición del alimento contaminado hasta dos días después en que los resultados fueran negativos.

Se analizaron las heces de cada una de las cucarachas al microscopio (objetivo 10X). Se homogeneizaron las muestras en un volumen conocido de SSFE; se tomó una alícuota de la suspensión para determinar el número de huevos expulsados por la cucaracha, expresando el valor en el volumen total de la suspensión.

Una vez que la eliminación de los huevos se completó, se realizó el análisis del tubo digestivo y las cavidades.

Se llevó a cabo la disección de la cucaracha de igual forma que en la obtención de tracto digestivo para el análisis bacteriológico.

El tubo digestivo de cada una de las cucarachas se colocó por separado en 3 ml de jugo gástrico artificial; por otra parte el contenido de cavidades se puso en gasas formando un paquete y este, se sumergió en 10 ml de jugo gástrico artificial contenidos en un tubo de ensaye. Todas las muestras se etiquetaron debidamente con lote y número de insecto.

Las muestras se dejaron en digestión durante 24 h, transcurrido el tiempo se fijaron con formaldehído al 10% (1 ml por tubo).

El tubo digestivo se analizó y reportó de igual forma que las heces excretadas durante la exposición con alimento contaminado.

Para analizar cavidades, se retiró la gasa y centrifugó a 500 rpm por 5 min. Se observaron al microscopio en objetivo 10X cada uno de los sedimentos, registrandose el número de larvas encontradas en cada muestra.

ANALISIS DE RESULTADOS PARASITOLÓGICOS.

El análisis de resultados se realizó con un estudio de análisis de varianza para observar la significancia de los datos obtenidos, así como el análisis de medias mediante la prueba de Tukey. (29).

V.- R E S U L T A D O S

I. BACTERIOLOGICOS

De acuerdo a la experimentación en cada una de las muestras se observaron los mismos tipos de colonias en agar MacConkey, por lo que se trabajaron las colonias puras y por ello se agruparon los resultados. Tablas 1 a 4. En las figuras 7 a 9 se muestran las pruebas bioquímicas efectuadas en tubo y en el sistema API 20-E.

TABLA 5. BACTERIAS GRAMNEGATIVAS AISLADAS DE CUCARACHAS

	Nº total de identificaciones	Nº de insectos que presentan el m.o.	% de insectos con el m.o.
Enterobacteriaceae	84	65	100
<u>Achromobacter spp.</u>	6	25	38.5
<u>P. aeruginosa</u>	4	15	23.1
<u>A. calcoaceticus</u>	4	10	15.3

Se realizaron un total de 98 aislamientos; a partir de los lotes examinados se establece que el mayor porcentaje corresponde a la familia Enterobacteriaceae, seguidas en menor proporción por tres géneros pertenecientes al grupo de los gramnegativos no fermentadores; también es notorio el alto porcentaje de enterobacterias en todos los lotes trabajados, situación que no se presenta en los no fermentadores.

Tabla. 1

LOTE Y CEPA	ONEG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	UREA	INDOL	VP	GEL	MAN	INO	SOR	RHAM	MEL	ARA	OXI	NO ₂	MOT	O-F	LAC	RM	GRAM	CAT	TSI	PERFIL ANALITICO API 20E
L1-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	k/k	0302042
L1-2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	k/0	1244573
L1-3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	k/n	1244751
L1-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	k/k	0000000
L1-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	k/0	0204573
L1-6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n/0	3004573
L1-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	k/v	0110005

Nº de Insectos: 10 <u>Periplaneta americana</u>	CUENTA TOTAL EN PLACA	GÉNERO Y ESPECIE DE MICROORGANISMOS AISLADOS:
MUESTRAS TRABAJADAS: Lavado, macerado y hecen	INCONTABLES.	1.- <u>Acinetobacter calcoaceticus</u> 2.- <u>Enterobacter agglomerans</u> 3.- <u>Klebsiella ozaenae</u> 4.- <u>Xenorhabdus luminiscens</u> 5.- <u>Citrobacter freundii</u> 6.- <u>Enterobacter cloacae</u> 7.- <u>Achromobacter</u> spp.
LUGAR DE PROCEDENCIA: Estación del metro Chapultepec	CUENTA DE COLIFORMES EN PLACA	
	INCONTABLES	

Tabla. 2

LOTE Y CEPA	ONEG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	UREA	INDOL	VP	GEL	MAN	INO	SOR	RHAM	MEL	ARA	OXI	NO ₂	MOT	O-F	LAC	RM	GRAM	CAT	TSI	PERFIL ANALITICO API 20E
L2-1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	n/n	3305133
L2-2	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	n/k	0210005
L2-3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	n/0	5344573
L2-4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	+	-	-	-	n/0	1303172
L2-5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	+	-	-	-	n/0	1303161
L2-6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	n/0	0204573
L2-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	n/0	0204573
L2-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	F	-	-	-	-	n/0	0204573

Nº de Insectos: 14 <u>Blattella germanica</u>	CUENTA TOTAL EN PLACA	GÉNERO Y ESPECIE DE MICROORGANISMOS AISLADOS:
MUESTRAS TRABAJADAS: Lavado y macerado	INCONTABLES	1.- <u>Enterobacter agglomerans</u> 2.- <u>Acinetobacter calcoaceticus</u> 3.- <u>Enterobacter cloacae</u> 4.- <u>Citrobacter freundii</u> 5.- <u>Klebsiella ozaenae</u> 6.- <u>Enterobacter agglomerans</u> 7.- <u>Salmonella enteritidis</u> 8.- <u>Enterobacter blattae</u>
LUGAR DE PROCEDENCIA: Edificio de Diagnóstico FES-C, Departamento de Diagnóstico Clínico.	CUENTA DE COLIFORMES EN PLACA	
	INCONTABLES	

TABLA. 3

LOTE Y FECHA	ZNEG	ADH	LDC	ORC	CLT	H ₂ S	UREA	INDOL	VP	GEL	MAN	IND	SOR	RHAM	MEL	ADA	OXI	NO ₂	MOT	D-F	LAC	RM	GRAM	CAT	TSI	PERFIL ANALITICO API 20E
L3-1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	1344573
L3-2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	1344713
L3-3	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	5744773
L3-4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	1344163
L3-5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	4504572
L3-6	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	O	F	*	*	*	+	5044572
L3-7	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	0244773
L3-8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	0244373
L3-9	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	7704573
L3-10	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	3405573

N° de insectos: 25 <i>Blattella germanica</i> .	CUENTA TOTAL EN PLACA	GENERO Y ESPECIE DE MICROORGANISMOS AISLADOS:
MUESTRAS TRABAJADAS: Lavado y macerado	INCOUNTABLES	1.- <u>Enterobacter aerogenes</u> 2.- <u>Citrobacter diversus</u> 3.- Grupo enterico N° 90 4.- <u>Klebsiella erythrogenes</u> 5.- <u>Salmonella cholerae suis</u> 6.- <u>Escherichia coli inactiva</u> 7.- <u>Citrobacter freundii</u> 8.- <u>Providencia alcalifaciens</u> 9.- <u>Salmonella subgrupa 3b (arizonae)</u> 10.- <u>Enterobacter cloacae</u>
LUGAR DE PROCEDENCIA: Tortilleria de la colonia Buenavista, Tultitlan, Edo. de Méx.	CUENTA DE COLIFORMES EN PLACA	
	INCOUNTABLES	

TABLA. 4

LOTE Y FECHA	ZNEG	ADH	LDC	ORC	CLT	H ₂ S	UREA	INDOL	VP	GEL	MAN	IND	SOR	RHAM	MEL	ADA	OXI	NO ₂	MOT	D-F	LAC	RM	GRAM	CAT	TSI	PERFIL ANALITICO API 20E
L4-1	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	674710
L4-2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	670477
L4-3	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	1404537
L4-4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	5307163
L4-5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	O	F	*	*	*	+	7706006
L4-6	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	F	F	*	*	*	+	3404573

N° de insectos: 15 <i>Blattella germanica</i> .	CUENTA TOTAL EN PLACA	GENERO Y ESPECIE DE MICROORGANISMOS AISLADOS:
MUESTRAS TRABAJADAS: Lavado y macerado	INCOUNTABLES	1.- <u>Providencia religiosa</u> 2.- <u>Salmonella sp.</u> 3.- <u>Citrobacter freundii</u> 4.- <u>Serratia marcescens</u> 5.- <u>Pseudomonas aeruginosa</u> 6.- <u>Enterobacter cloacae</u>
LUGAR DE PROCEDENCIA: Hospital de Traumatología de Lomas Verdes	CUENTA DE COLIFORMES EN PLACA	
	INCOUNTABLES	

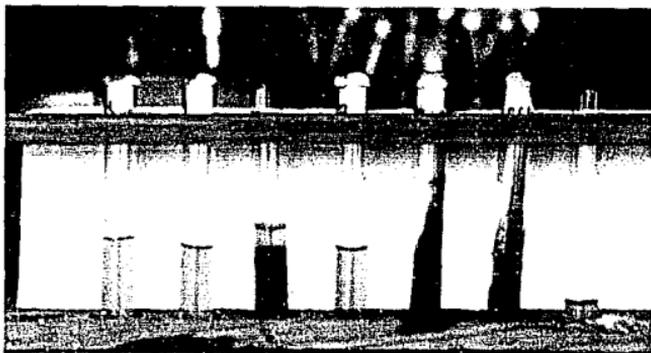


FIGURA 7. Pruebas bioquímicas para identificación de enterobacterias. De izq. a der., OF, SIM, Urea, Citratos, TSI y RM. (Ejemplo correspondiente a *Salmonella spp.*)

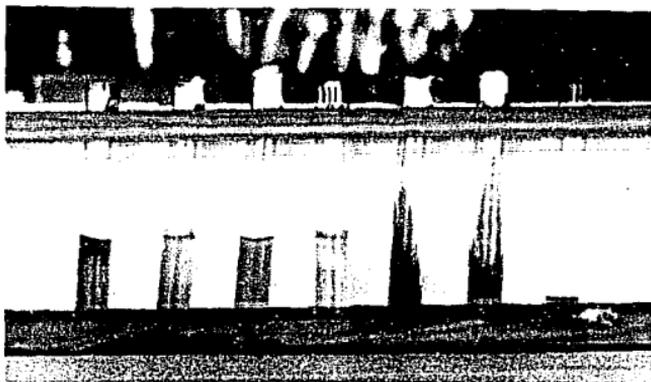


FIGURA 8. Pruebas bioquímicas para la identificación de enterobacterias. De izq. a der. OF, Urea, SIM, Citratos, TSI y RM. (Ejemplo correspondiente a *Providencia rettgeri*)

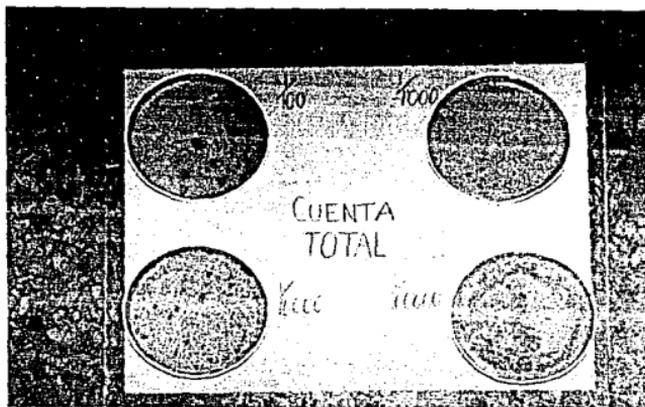


FIGURA 10. Ejemplificación de una cuenta total bacteriana en placa para una muestra de macerado de cucaracha.

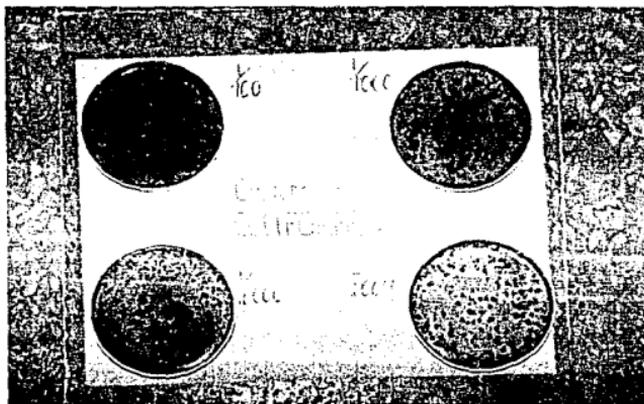


FIGURA 11. Cuenta de coliformes en placa para una muestra de macerado de cucaracha.

 TABLA 6. DISTRIBUCION DE GENEROS IDENTIFICADOS DE CUCARACHAS.

GENERO	LOCALIZACION			
	METRO	POGRADO	TORTILLERIA	HOSPITAL
<u>Citrobacter</u>	4	4	3	7
<u>Enterobacter</u>	5	4	5	6
<u>Salmonella</u>		3	5	7
<u>Escherichia</u>		2	4	
<u>Kluvvera</u>		1	3	
<u>Providencia</u>			5	3
<u>Achromobacter</u>	4	2		
<u>Klebsiella</u>	4			
<u>Serratia</u>				4
<u>Xenorhabdus</u>	3			
<u>Acinetobacter</u>	4			
<u>Pseudomonas</u>				4
<u>Grupo ent. No 90</u>			2	

La distribución de los 98 aislamientos se presenta en la tabla anterior, en donde se establece el número de identificaciones por género, de acuerdo a la zona de procedencia de los insectos. De esta tabla se desprende un análisis estadístico mediante una prueba de ji-cuadrada, para determinar

si los aislamientos bacterianos efectuados en cada una de las zonas muestreadas se presentaron independientemente al medio ambiente en el que se recolectaron las cucarachas.

Para el análisis estadístico se formaron tres grupos bacterianos, en donde el grupo N^o 1 corresponde a aquellos géneros que se lograron aislar en las 4 zonas muestreadas; el grupo N^o 2 resultó de los géneros identificados en 3 o 2 de los lugares analizados; y en el grupo N^o 3 se asociaron todos los géneros que se identificaron sólo en alguna de las zonas muestreadas. Este agrupamiento se llevó a cabo para cumplir los requerimientos del método de ji-cuadrada. Con esto se obtiene una tabla de análisis de ji-cuadrada 4 X 3, trabajada con un nivel de significación de 0.05. En donde se considera:

Ho. : Los aislamientos bacterianos realizados en cucarachas son independientes del medio ambiente en el que estas se encuentran.

Hi. : Los aislamientos bacterianos son dependientes del medio ambiente.

Regla de decisión: Rechace Ho, si ji-cuadrada calculada es mayor que ji-cuadrada de tablas.

$$E = \frac{(\text{Total trat. } i) \times \text{Total Lot } e.}{\text{Total}} \times \frac{C}{X} = \frac{2}{C} \times \frac{(\text{Obs.} - \text{Esp.})^2}{\text{Esp.}}$$

$$g.l. = 6 \quad \text{ji-cuadrada de tablas} = 12.59$$

$$\text{alfa} = 0.05$$

Decisión: Como ji-cuadrada calculada es (21.3) mayor que ji-cuadrada de tablas, se rechaza Ho., por lo tanto los aislamientos dependen del medio ambiente.

II. PARASITOLÓGICOS

Bajo las condiciones experimentales, las cucarachas desalojaron en heces huevos larvados, no larvados, eclosionados y larvas libres de Toxocara canis. Figuras 12 a 15. En cada una de las formas recuperadas el máximo registro se dio en el día 2 del análisis, disminuyendo el valor para el día 3 y 4, haciéndose nuevamente significativo para el día 5, a partir del sexto día, los valores van disminuyendo gradualmente hasta el día 12 en donde se registran los valores mínimos en la recuperación de formas parasitarias. Los datos de las formas recuperadas en heces se condensan en la tablas 7 a 10 empleadas para el análisis estadístico presentado en las tablas 7' a 10', en donde no hay significancia estadística, excepto para los huevos no larvados, según se muestra en la tabla 8" (Prueba de Tukey), en donde los lotes 3 y 4 presentan una excreción de huevos no larvados en mayor proporción comparados con los lotes 5,1,C, y control respectivamente; sin embargo en DMSH no se presenta diferencia significativa entre el lote 3 y el 5 y 1, así como entre el lote 4 y el control.

En el análisis de intestino después de los 12 días de exposición de las cucarachas al alimento contaminado, no se registro la presencia de las formas parasitarias, pero en cuanto al análisis de cavidades de los insectos se observo que, si se dio la implantación de larvas (Figura 16), los datos

experimentales se presentan en la tabla 11, en donde se expone el número de larvas registradas en cada uno de los insectos. En el promedio por lote la implantación de larvas presenta una tendencia de aumento hasta el lote 3, en donde inclusive se registró la cucaracha con el mayor número de larvas implantadas con 17; en los lotes 4 y 5 se da una disminución en la infestación.

TABLA 7. HUEVOS LARVADOS RECUPERADOS DE HECEs DE CUCARACHAS

DIA	2	3	4	5	6	9	10	12	X1	*X2	X12	X
LC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L1	10	0	12	35	0	18	6	4	85	1845	7225	10.6
L2	51	16	20	42	13	67	9	0	218	9760	47522	27.3
L3	82	27	13	58	18	0	0	4	202	11326	40804	25.3
L4	45	0	3	28	23	38	0	0	137	4791	18769	17.1
L5	48	0	0	23	0	38	15	0	124	4502	15376	15.5
									766	32224	129698	

TABLA 7' DE ANDEVA PARA HUEVOS LARVADOS RECUPERADOS.

FUENTE	SC	G.L.	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTO	3988.17	5	797.6	2.092	2.44
ERROR	16011.75	42	381.23		
TOTAL	19999.92	47			

Como Fc es menor que Ft, no hay significancia estadística.

TABLA 8. HUEVOS NO LARVADOS RECUPERADOS DE HECEs DE CUCARACHAS

DIA	2	3	4	5	6	9	10	12	X1	*X2	Xi2	X
LOTE												
LC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L1	28	8	12	28	10	24	12	2	124	2600	15376	15.5
L2	44	13	13	56	20	69	11	2	228	10698	51984	28.5
L3	187	80	13	69	156	2	9	0	516	70720	266256	85.5
L4	84	85	10	30	45	45	8	0	307	19395	94249	38.4
L5	75	15	0	20	0	30	20	0	160	7550	25600	20.0
									1335	110961	453465	

TABLA 8' DE ANDEVA PARA HUEVOS NO LARVADOS RECUPERADOS

FUENTE	SC	G.L.	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTO	19553.43	5	3910.7	2.02	2.44
ERROR	54277.86	42	1292.3		
TOTAL	73831.30	47			

Como Fc es mayor que Ft, hay significancia estadística.

TABLA 8". P R U E B A D E T U K E Y

TRATAMIENTO	LC	L1	L5	L2	L4	L3	DMS	DMSH
X	0	15.5	20.0	28.5	38.4	64.5	36.6	53.76
		DMS	X		DMSH			
	L3		64.5					
	L4		38.4					
	L5		20.0					
	L1		15.5					
	LC		0.0					

TABLA 9. HUEVOS ECLOSIONADAS RECUPERADOS DE HECE DE CUCARACHAS.

DIA	2	3	4	5	6	9	10	12	X1	*X2	X12	X
LC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L1	72	40	6	24	14	22	10	8	196	8240	38416	24.5
L2	80	53	20	36	9	47	20	2	267	13599	71289	33.4
L3	167	91	0	60	13	4	9	0	344	40036	118336	43.0
L4	99	73	0	93	23	35	25	0	248	26158	121104	43.5
L5	135	60	0	58	20	30	15	0	318	26324	101124	39.8
	1473 114427 450269											

TABLA 9' DE ANDEVA PARA HUEVOS ECLOSIONADOS RECUPERADOS.

FUENTE	SC	G.L.	CM	Fc	Ft
TRATAMIENTO	11080.94	5	2216.19	1.6	2.44
ERROR	58143.38	42	1384.37		
TOTAL	69224.31	47			

Como Fc es menor que Ft, no hay significancia estadística.

TABLA 10. LARVAS LIBRES RECUPERADAS DE HECE DE CUCARACHAS.

DIA	2	3	4	5	6	9	10	12	X1	*X2	X12	X
LC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L1	10	0	0	10	2	6	0	2	30	244	900	3.8
L2	27	16	4	4	0	7	7	0	65	1115	4225	8.2
L3	53	7	0	4	0	0	0	0	64	2875	4096	8.0
L4	22	0	3	33	0	8	18	0	84	1970	7056	10.5
L5	53	3	0	3	0	20	0	0	79	3227	6241	9.9
	322 9430 22518											

TABLA 10' DE ANDEVA PARA LARVAS LIBRES RECUPERADAS.

FUENTE	SC	G. L.	CM	F _c	F _t
TRATAMIENTO	654.67	5	130.93	0.83	2.44
ERROR	6615.25	42	157.50		
TOTAL	7269.92	47			

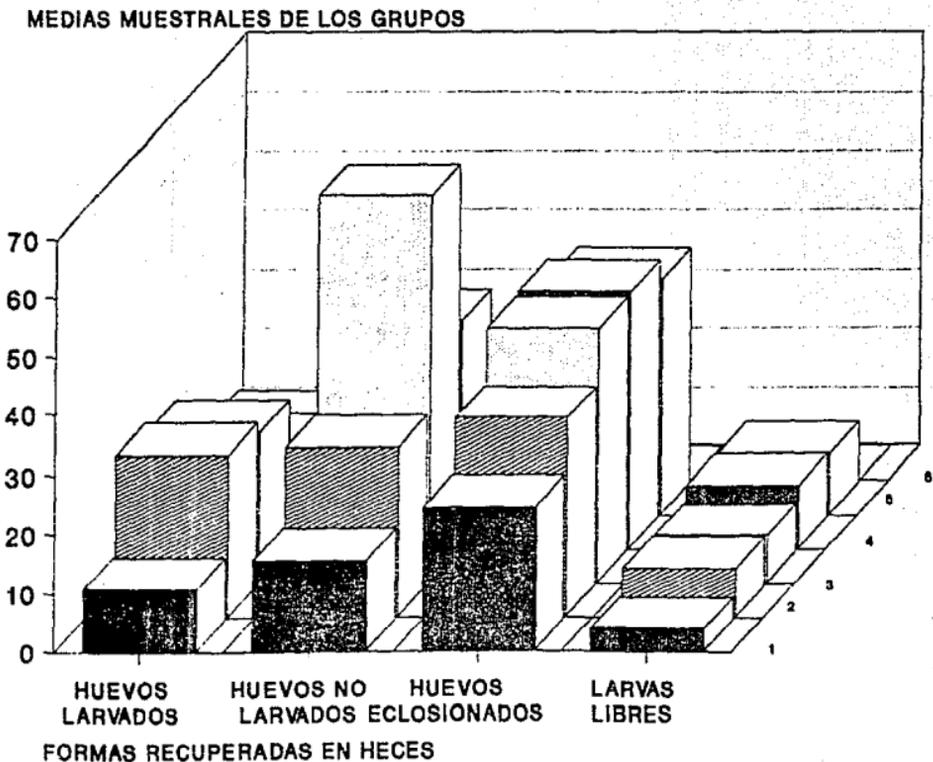
Como F_c es menor que F_t, no hay significancia estadística.

TABLA 11. LARVAS REGISTRADAS EN CAVIDADES DE CUCARACHAS.

CUCARACHA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
LOTE										
LC	0	*	0	0	0	0	0	*	0	0
L1	0	4	6	2	4	5	6	4	8	5
L2	12	4	*	8	14	10	9	9	10	7
L3	10	15	5	14	*	15	17	13	5	3
L4	12	9	5	7	3	*	11	*	13	2
L5	3	*	4	*	2	7	3	2	5	0

* Cucarachas muertas durante la experimentación.

Gráfica NO.1: Comparación de medias de formas recuperadas en heces



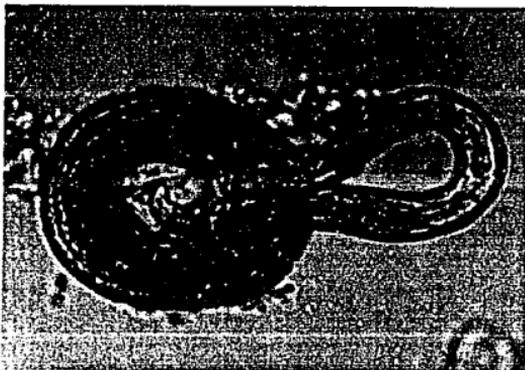


FIGURA 12. Huevo larvado de Toxocara canis en eclosión.
(aumento 10X)



FIGURA 13. Huevo infértil de Toxocara canis
(aumento 10X)



FIGURA 14. Huevo eclosionado de *Toxocara canis*.
(aumento 10X)

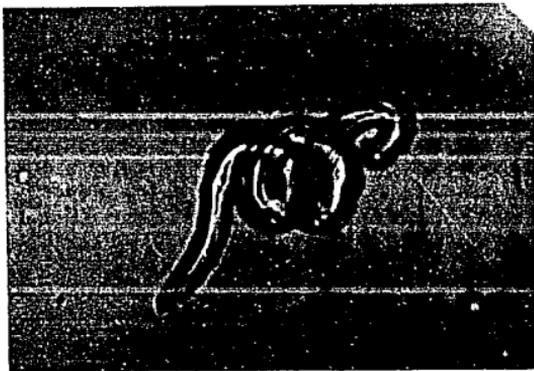


FIGURA 15. Larva libre de *Toxocara canis*.
(aumento 10X)

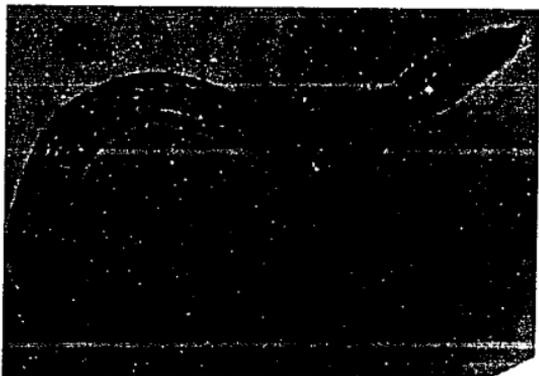


FIGURA 16. Larva de *Toxocara canis* recuperada en digestión de cavidades. (aumento 10X)

VI.- D I S C U S I O N

I. BACTERIOLOGIA

Por lo que se refiere a la cuenta en placas, se observa un crecimiento excesivo aún en la última dilución realizada, lo que implica una elevada concentración microbiana en cada una de las muestras analizadas, reflejando la importancia de estos insectos como fuente de contaminación. (Figuras 10 y 11).

Del análisis estadístico podemos establecer que existe diferencia significativa entre los aislamientos realizados y los esperados, con lo que la distribución de estos no se da en forma aleatoria, si no que los aislamientos realizados en los 4 grupos de cucarachas se presentaron en función del medio ambiente del que procedía cada lote. Estos resultados adquieren importancia tomando en cuenta que estos artrópodos pueden actuar como vectores mecánicos y reservorios naturales (26), y más aún, si desde el punto de vista médico se considera que cualquier insecto que vive en estrecha relación con los humanos representa un potencial problema de salud. (11).

Aunque la mayoría de las bacterias identificadas pertenecen a lo que se conoce como flora normal (o microorganismos comensales), estas adquieren importancia como patógenos humanos al introducirse en algún sitio susceptible (como cavidad peritoneal, líquido cefalo raquídeo, pulmones de algún hospedero inmunosuprimido, etc.) y por ello son capaces de producir enfermedad. (2).

Analizando cada una de las zonas muestreadas, observamos la presencia de bacterias comúnmente aisladas de suelo, agua, peces y otros animales (3), pero cabe destacar la presencia de algunos géneros bacterianos en una zona muestreada determinada, ya que esto podría servir como un parámetro para establecer las condiciones de sanidad de dicho sitio.

Partiendo de este punto de vista, es relevante la presencia de bacterias como E. cloacae, S. marcescens, C. freundii y P. aeruginosa en el Hospital de Traumatología de Lomas verdes, ya que aquí la adquisición y desarrollo de infecciones se ven favorecidos por las características de los pacientes hospitalizados, tales como edad, terapia antimicrobiana y otros factores que contribuyen a disminuir los mecanismos de defensa, facilitando la diseminación y ataque de microorganismos oportunistas, lo que da por resultado la aparición de infecciones nosocomiales. (24). Balows et.al. (2) reportan a estos organismos como causa frecuente de infecciones intrahospitalarias en los Estados Unidos. En donde P. aeruginosa representa el 11.4% de 29'562 aislamientos microbiológicos; Enterobacter spp. el 5.9% y en menor proporción Serratia spp. y Citrobacter spp. con el 2.3% y 1.4% respectivamente. Lazo (23) reportó que durante el periodo de junio de 1988 a mayo de 1989, se aislaron 198 cepas de P. aeruginosa; 96 cepas de Enterobacter spp. y 22 cepas de Citrobacter, de un total de 1042 casos analizados de heridas en el Hospital de Traumatología de Lomas Verdes, y aunque no establece la presencia de estos microorganismos como referencia a

una patología en particular, hay que tomar en cuenta su capacidad para actuar como patógenos oportunistas; y si observamos que además pueden ser aislados de cucarachas, habría que considerar a estas últimas como un posible eslabón dentro de la cadena epidemiológica en infecciones nosocomiales. Cabe mencionar que los aislamientos efectuados en el presente trabajo son similares a los citados por Ramirez, P.J. (26), al igual que los reportados por Burgess et.al. (8) en donde se trabajaron cucarachas procedentes de hospitales en Londres.

En los aislamientos de el lote de cucarachas procedente de la tortilleria cabe destacar la elevada presencia de microorganismos de flora fecal normal, generalmente asociados a infecciones oportunistas. De aqui sobresalen las identificaciones correspondientes al grupo de las salmonelas, ya que son los agentes etiológicos de la mayoría de las gastroenteritis transmitidas por los alimentos (2), en el caso particular de S. cholerae suis tiende a la diseminación sistémica, invadiendo sangre y causando graves estados febriles (fiebre tifoidea o entérica).

En establecimientos como la tortilleria los alimentos se contaminan con patógenos a partir de utensilios, aire, suelo, agua, animales e insectos (en el caso particular las cucarachas) que actúan como vectores, además de los operarios que manipulan los alimentos y que se pueden convertir en portadores asintomáticos; todos estos factores constituyen un posible foco de infección para la población en general.

Se sabe que una de las principales vías de infección por alimentos contaminados, es aquella en donde estos no constituyen un medio de cultivo para los microorganismos pero si los transportan, siendo este el caso de la tortilleria en donde las condiciones sanitarias del establecimiento en general no son las más adecuadas. Tales condiciones se ponen en evidencia con los aislamientos bacterianos obtenidos de las cucarachas recolectadas de este medio. Seria conveniente efectuar un análisis bacteriológico en el producto terminado para poder establecer si realmente las cucarachas constituyen una fuente de diseminación bacteriana en la tortilleria.

Conjuntando los resultados obtenidos del área de posgrado y la estación del metro, se podría establecer que este tipo de aislamientos fue debido principalmente a la exposición de los insectos a aguas residuales que son colectadas por los sistemas de alcantarillado; ya que los géneros bacterianos identificados no requieren de factores predisponentes para su presencia.

Podemos decir también que lugares como estos no representarían un foco de infección directa, debido a que no se presenta una relación directa entre el hombre y la cucaracha.

En el análisis bacteriológico se lograron aislamientos que, aunque no son de interés clínico se encuentran reportados como flora normal del insecto, tal es el caso de E. blattae y Xenorhabdus luminescens. (3,14).

II. PARASITOLOGIA

A lo largo de la experimentacion se pudo establecer a la cucaracha como diseminadora y hospedero paratenico de Toxocara canis.

En el análisis se observa que no hay diferencia estadística entre las dosis administradas a cada lote de cucarachas y las formas excretadas en heces, a pesar que en el análisis para huevos no larvados si se presenta una varianza entre las medias, al observar la DMSH que es un parámetro más estricto que la DMS la diferencia sólo se presenta entre el lote 3 y el lote control, lo que nos sirve para establecer el grado máximo de aceptación por los lotes, esto se refleja en todas las formas recuperadas ya que en todas las medias muestrales se observa que del lote 1 al 3, la tendencia es el aumento de las formas recuperadas, mientras que en el lote 4 y 5 se observa una disminución. Esta situación se pone de manifiesto en la gráfica No. 1 al comparar las medias de las formas excretadas en cada lote.

Tal renuencia para consumir el alimento probablemente se deriva de las elevadas dosis de formas infectantes, con lo cual las cucarachas percibieron problemas en la alimentación y dejaron de consumirlo, inclusive bajo las condiciones de infección algunas murieron.

En las condiciones experimentales, las cucarachas fueron capaces de desalojar por espacio de 12 días los huevos de

parásitos tanto larvados como no larvados, además de los eclosionados de los cuales presumiblemente salieron las larvas libres, lo cual implica la presencia de formas infectantes de Toxocara canis, esto nos lleva a establecerlas como posibles diseminadoras de la toxocariasis; esto es de gran importancia, ya que en lugares donde aparentemente no existe contaminación fecal por cachorros de perro, y existen cucarachas y estas se han alimentado de heces que contienen formas infectantes, es factible que se presenten casos de LMV si también hay sujetos propicios para contraer la enfermedad.

Cabe mencionar que es difícil que una cucaracha ingiera la forma infectante que ocasiona el síndrome de LMV, ya que si se alimentaran de heces contaminadas estas presentarían huevos inmaduros que generalmente alcanzan el estado infectante en el suelo, pero por los hábitos de las cucarachas, esta puede estar en contacto con agua y suelo contaminado, así como alimentarse de materiales contaminados, por esto la diseminación de la toxocariasis no resulta rara.

La incorporación de las larvas a cucarachas permite establecerlas como hospederos paraténicos ya que en el análisis de digestión de cavidades se detectó la presencia de larvas que lograron penetrar al intestino de las cucarachas. Los valores registrados no son homogéneos para todos los insectos, de aquí se establece la existencia de factores individuales en cada insecto

que influyen en estos resultados; factores tales como la aceptación del inóculo, tamaño o peso de la cucaracha, entre otros factores inherentes a la experimentación; a pesar de esto, analizando los resultados como lote, se ve que la implantación de larvas de Toxocara canis también sigue un comportamiento de incremento hasta el lote 3 y un decremento en los lotes 4 y 5 . Con base en lo anterior se puede establecer que a mayor dosis de inóculo, disminuye el índice de implantación por una saturación con formas infectantes en el intestino de la cucaracha que conduce a un daño severo, lo que impidió una mayor migración en los insectos sometidos a mayores dosis por lo que el daño en el intestino hizo que la cucaracha se negara a consumir el alimento contaminado, lo cual nos hace pensar en la importancia de realizar estudios para analizar la evolución de la implantación por lapsos más amplios y auxiliándose con cortes histológicos para determinar el grado de infestación del intestino o fuera de él.

En estudios anteriores, la cucaracha ya ha sido reportada como hospedero paraténico de Ancylostoma caninum por Beaver (6), nemátodo que ocasionalmente produce lesiones viscerales en el hombre cuando la larva llega al aparato digestivo en agua, vegetales y suelo contaminado, penetrando la pared intestinal siguiendo un camino hacia vísceras extraintestinales (10). En géneros como A. caninum y T. canis los ciclos involucran a hospederos paraténicos mamíferos como el ratón. En estos casos se

presenta una migración extraintestinal con la subsecuente distribución y permanencia de la larva en sus vísceras y musculatura de manera que la detección de la cucaracha como hospedero paraténico amplía las posibilidades de transmisión de este parasitismo.

VII.- CONCLUSIONES

- En condiciones naturales y experimentales, las cucarachas se presentaron como portadores de agentes patógenos de interés clínico.
- Se observó que las cucarachas son capaces de transportar agentes patógenos en su integumento, intestino y heces.
- Las cucarachas, además de actuar como vectores, se manifestaron como hospederos paraténicos de Toxocara canis.
- De esta investigación se concluye, que la cucaracha es un vector accidental de agentes patógenos, debido a sus hábitos y al medio en el que se encuentran; por ello se les tiene que considerar como un eslabón importante dentro de la cadena epidemiológica en cuanto a la diseminación de enfermedades.

VIII.- B I B L I O G R A F I A

- 1.- Abdel-Hameed, A.A. (1984). Effect of thiabendazole on the migration of Toxocara canis larvae in the mouse. J. Parasit. 70 (2), pp. 226-231.
- 2.- Bailey, S. (1989). Diagnóstico Microbiológico. 7a.ed. Ed.Panamericana. Argentina. p. 879.
- 3.- Balow, A.,Hausler, W.Jr.,Herrmann, K.L. (1991). Manual of Clinical Microbiology. 5th.ed. American Society for Microbiology. U.S.A. p. 1364.
- 4.- Barnes, D.R. (1986). Zoología de los Invertebrados. 3a.ed. Nueva Editorial Interamericana. México. p, 1157.
- 5.- Bartzokas, A.C.,McCarthy, K.,Shackleton, B.W., Baker, F.B. (1978). Observation of the effects of formaldehyde on cockroaches and their flora: I. Survival of vaccina virus-infected cockroaches during fumigation with formaldehyde. J.Hyg.,Camb. 80 pp.125-129.
- 6.- Beaver, C.P. (1969). The nature of visceral larva migrans. J.Parasit. 55 (1). pp. 3-12.
- 7.- Becerril, P.,Bessudo, D.,González-Cortes,A. (1979).Busqueda de portadores de Salmonella en diferentes grupos de población de la ciudad de México. Rev. Lat-amer. Microbiol. 21. pp. 115-119.

- 8.- Burgess, N.R.H., McDerton, S.N., Whiting, J. (1973). Aerobic bacteria occurring in the hind-gut of the cockroach, Blatta orientalis. J.Hyg., Camb. 70 (1) pp. 1-7.
- 9.- Burgess, N.R.H., McDerton, S.N., Whiting, J. (1973). Laboratory transmission of Enterobacteriaceae by the oriental cockroach Blatta orientalis. J.Hyg., Camb. 70 (1). pp. 9-14.
- 10.- Faust, E.C., Russell, P.F., Clifton, J.R. (1979). Craig y Faust. Parasitologia clinica. Salvat ed. Barcelona. p. 888.
- 11.- Cruden, D.L., Markowitz, A.J. (1987). Microbial ecology of the cockroach gut. Ann.Rev.Microbiol. 41. pp. 617-643.
- 12.- Chinchilla, M., Ruiz, A. (1976). Cockroaches as possible transport host of Toxoplasma gondii in Costa Rica. J.Parasit. 62 (2). pp. 140-142.
- 13.- Dolinsky, Z.S., Burighth, R.G., Donovick, P.J., Glickman, L.T. (1981). Behavioral effects of load and Toxocara canis in mice. Science. 203. pp. 1142-1144.
- 14.- Farmer, J.J., III, Davis, B.R., Hickman-Brenner, F.W., McWhorter, A., Huntley-Carter, G.P., Asbury, M.A., Riddle, C., Wathen-Grady, H.G. (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J.Clin.Microbiol. 21. pp. 46-76.

- 15.- Freeman, B.A. (1984). Tratado de microbiología de Burrows. 21a.ed. Ed. Interamericana. México. p. 847.
- 16.- Gumby, P. (1979). Rusing number of man's best friends ups human toxocariasis incidence. JAMA. 242 (13). pp. 1343-1344.
- 17.- Harwood, F.R., James, T.M. (1987). Entomología Médica y Veterinaria. Limusa. México. p. 617.
- 18.- Holt, R.H.F. (1989). Hymenolepis diminuta utilizes the envelope surrounding Moniliformis moniliformis in order to survive in the cockroach host. J.Parasit. 75 (1). pp 160-162.
- 19.- Jaques, H.E. (1978). How to know the insects. 3th.ed. The Pictured Key Nature Series. U.S.A. p. 105.
- 20.- Kats, M., Dickson, D.D., Gwadz, R. (1988). Parasitic Diseases. 2th.ed. Springer-Verlag. U.S.A. p. 301.
- 21.- Kayes, S.G. (1984). Spleen cell responses in experimental murine toxocariasis. J.Parasit. 70 (4). pp. 522-529.
- 22.- Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R.Jr., Sommers, H.M. (1991). Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas Color. Editorial Médica Panamericana. México. p. 533.
- 23.- Lazo, G., Becerril, O. (1991). Estudio comparativo de la flora bacteriana aislada a partir de heridas y conocer la frecuencia de estos microorganismos en los Hospitales del IMSS. FES-C UNAM. P. 54.

- 24.- López, A., Hill, J. (1982). Análisis bacteriológico de los alimentos del Centro Hospitalario 20 de Noviembre. FESC UNAM. p. 94.
- 25.- Peregrine, P.C. (1974). Host dietary changes and the hind-gut fauna of cockroaches. Int.J.Parasit. 4. pp. 645-656.
- 26.- Ramirez, P.J. (1989). La cucaracha como vector de agentes patógenos. Infectologia. 9 (12). pp 729-739.
- 27.- Ross, H.H. (1978). Introducción a la Entomología General y Aplicada. 4ª.ed. Ediciones Omega. Barcelona. p. 536.
- 28.- Schantz, P.M., Glickman, L.T. (1978). Current concepts in parasitology. Toxocaral visceral larva migrans. N.Engl.J.Med. 298. pp. 436-439.
- 29.- Scheffler, W.C. (1981). Bioestadística. Fondo educativo interamericano. México. p. 267.
- 30.- Wallace, G.D. (1972). Experimental transmission of Toxoplasma gondii by cockroaches. J.Infect.Dis. 126 (5). pp. 545-547.
- 31.- Worley, D., Green, J.A., Frothingham, T.E., Sturner, R.A., Walls, K.W. (1984). Toxocara canis infection: clinical and epidemiological associations with seropositivity in kindergarten children. J.Infect.Dis. 149 (4). pp. 591-597.

32.- Zyngier, F.R. (1974). Histopathology of experimental toxocariasis in mice. Ann.Trop.Med.Parasitol. 68 (2). pp. 225-228.