



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

“EVALUACIÓN DE CUCARACHAS DE LOS GÉNEROS *Blattella*
***germanica* Y *Periplaneta americana* COMO POSIBLES HOSPEDEROS**
PARATÉNICOS DE *Toxocara canis*”.

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD
ANIMAL

P R E S E N T A:

M. en C. TABATA BERENICE GONZÁLEZ GARCÍA

TUTOR:

DR. FERNANDO ALBA HURTADO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, AGOSTO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

AGRADECIMIENTOS

A MI MAMÁ

Gracias Mamá por nuevamente apoyarme en otra etapa más de mi vida, este logro es de ambas, te quiero mucho y seguiremos juntas en lo que venga.

A MI FAMILIA

Les agradezco el siempre estar conmigo en las buenas y en las malas mamá Adrianita, hermanito Willy, a Yiyi, mi tía Mara, tío Alonso, Osiris, Ramses aunque ahora andan en diferentes lugares seguimos juntos; y a ti Enrique por estar junto conmigo en el camino.

A MIS AMIGOS

Aunque cada vez es más complicado estar juntos todos son muy importantes para mí, Lupita eres una gran amiga y sabes que te quiero mucho y siempre estaré para lo que necesites, Mari y Omarcin ya saben que siempre pueden contar conmigo los quiero. Nuevos amigos en el camino en mi etapa laboral como Martita que ha sido una persona muy buena en mi camino junto con Gonz y Chucho que me apoyaron tanto; además de Lyla que es una persona muy linda y especial a la que también quiero mucho y David que me apoyo tanto dándonos la mano cuando más lo necesitamos.

A MI TUTOR:

Doctor Fer mil gracias por todas sus enseñanzas ahora que estoy trabajando es cuando más se valora todo el conocimiento que me ayudo a comprender.

AGRADECIMIENTO POR APOYOS:

Agradezco el apoyo del proyecto PAPIIT IN222316 Combinación de un concentrado vesicular de metacestodos de Taenia hydatigena y antígenos de Haemonchus contortus para el mejoramiento de la protección en la hemoncosis ovina.

Agradezco el apoyo de la Beca CONACYT Nacional para estudios de Doctorado

Agradezco a la Beca COMECYT de Apoyo a estudiantes destacados para poder asistir a un congreso internacional

Agradezco al Posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud animal los apoyos para asistir a congresos internacionales.

Agradezco a la Dra. Guadalupe Prado Ochoa, Dr. Marco Antonio Muñoz Guzmán, M en C. Crisoforo Mercado Márquez y M en C. Cesar Cuenca Verde por su apoyo en el desarrollo experimental de la tesis.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
ABREVIATURAS.....	VIII
RESUMEN.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
MORFOLOGÍA	
Adultos.....	2
Larvas.....	3
Huevos.....	4
CICLO BIOLÓGICO.....	4
EPIDEMIOLOGÍA.....	9
GENERALIDADES DE CUCARACHAS.....	11
HIPÓTESIS.....	17
JUSTIFICACIÓN.....	18

OBJETIVOS.....	19
MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
LUGAR DE REALIZACIÓN.....	20
ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	21
OBTENCIÓN DE HUEVOS LARVADOS DE <i>T. canis</i>	23
OBTENCIÓN Y CULTIVO DE LARVAS.....	23
OBTENCIÓN DE Ag SET.....	24
ELISA.....	25
ELECTROFORESIS EN GELES SDS-PAGE.....	26
TINCIÓN DE PLATA PARA GELES DE POLIACRILAMIDA.....	27
INMUNOTRANSFERENCIA Y WESTERN BLOT.....	28
INOCULACIÓN EXPERIMENTAL DE CUCARACHAS..	29
DISEÑO DE CINÉTICA DE ELIMINACIÓN DE HUEVOS LARVADOS DE <i>T. canis</i> ELIMINADOS EN HECES DE	

CUCARACHAS <i>B. germanica</i> Y <i>P. americana</i> INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE.....	30
DISEÑO EXPERIMENTAL DE INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE RATAS CON HECES DE CUCARACHAS <i>B. germanica</i> Y <i>P. americana</i> INOCULADAS EXPERIMENTALMENTE CON HLTC.....	32
DISEÑO EXPERIMENTAL INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE RATAS CON CUCARACHAS <i>B. germanica</i> Y <i>P. americana</i> INOCULADAS EXPERIMENTALMENTE CON HLTC.....	33
INGESTIÓN EXPERIMENTAL DE RATAS CON CUCARACHAS <i>B. germanica</i> Y <i>P. americana</i> SALVAJES.....	35
RESULTADOS.....	38
DISCUSIÓN.....	48
CONCLUSIONES.....	54
BIBLIOGRAFÍA.....	55

ÍNDICE FIGURAS

1.- Figura 1. Gusano adulto de <i>Toxocara canis</i>	2
2.- Figura 2. Larva 2 de <i>Toxocara canis</i>	3
3.- Figura 3. Huevo de <i>Toxocara canis</i>	4
4.- Figura 4. Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i>	8
5.- Figura 5. Anatomía de la cucaracha <i>Periplaneta americana</i> ..	13
6.- Figura 6. Unidad de Investigación Multidisciplinaria Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.....	20
7.- Figura 7. Contenedores de plástico utilizados para el hábitat de las cucarachas <i>B. germanica</i> y <i>P. americana</i>	21
8.- Figura 8. Modelo experimental, rata Wistar macho.....	22
9.- Figura 9. Frasco con grupo de cucarachas <i>B. germanica</i>	31
10.- Figura 10. Trampas con cucarachas <i>B. germanica</i> en clínica veterinaria.....	35
11.- Figura 11. Registro con desechos y cucarachas <i>P. americana</i> , y coladera para aplicación de las nebulizaciones.....	36
12.- Figura 12. Cucarachas <i>Periplaneta americana</i> de vida libre colectadas.....	36
13.- Figura 13. Media \pm desviación estándar de diferentes estructuras parasitarias eliminadas en heces de <i>Blattella germanica</i> y <i>Periplaneta americana</i> a diferentes días pos-ingestión de huevos larvados de <i>T. canis</i>	39
14.- Figura 14. Media \pm desviación estándar de número de larvas recuperadas en diferentes órganos de ratas alimentadas con heces de cucarachas <i>B. germanica</i> (A), heces de cucarachas <i>P. americana</i> (B), cucarachas completas	

B. germanica (C) y cucarachas completas *P. americana* (D) inoculadas con huevos larvados de *T. canis* a distintos días pos-ingestión.....40

15.- **Figura 15.** Media \pm desviación estándar de los niveles de IgG anti-AgSET en ratas infectadas con con heces de cucarachas *B. germanica* (A), heces de cucarachas *P. americana* (B), cucarachas completas *B. germanica* (C) y cucarachas completas *P. americana* (D) con 1, 2, 3, 6 y 10 días PI de huevos larvados de *T. canis* y un grupo testigo positivo inoculado con 500 HLTC.....41

16.- **Figura 16.** Lesiones producidas por infección experimental de ratas con heces de cucarachas *B.germanica* inoculadas con huevos larvados de *T. canis*. a) Puntos de leche en hígado, b) Protuberancias grisáceas y hemorragias en pulmones, c) Corte histológico de pulmón con una larva en un granuloma rodeada por eosinofilos y otros leucocitos, d) Corte histológico de cerebro con una larva sin infiltrado inflamatorio.....43

17.- **Figura 17.** Lesiones producidas por infección experimental de ratas con heces de cucarachas *B. germanica* inoculadas con huevos larvados de *T. canis*. a,b,c) Pulmones con infiltrado leucocitario y larvas enquistadas, d,e) Hígado con infiltrado leucocitario y congestión, f) Cerebro con larvas sin respuesta inflamatoria.....44

18.- **Figura 18.** Porcentaje de absorbancia por prueba de ELISA, de los sueros (del día 0, 14 y 21 P.I.) de grupos de ratas inoculadas con cucarachas *B. germanica* y *P. americana* a diferentes días PI. Niveles de IgG anti-Antígenos de Secreción Excreción de *T. canis* en ratas inoculadas con cucarachas salvajes45

19.- **Figura 19.** 1) Marcadores de peso molecular; 2) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con 500 huevos larvados de *T. canis*; 3, 4) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con heces *Batella germanica*; 5, 6) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas completas *B.*

germanica 7, 8) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con heces de cucarachas *Periplaneta americana* 9 10) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas *P. americana*; 11, 12) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas *Blatella germanica* salvajes; 13) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas *P. americana* salvajes; 14) Patrón bandas de AgSET47

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Toxocara canis</i>	1
Tabla 2. Frecuencia de <i>Toxocara canis</i> en el hospedero definitivo en diferentes países.....	10
Tabla 3. Taxonomía de los Blattelidos.....	11
Table 4. Distribución de grupos de ratas infectadas oralmente con heces de cucarachas <i>B. germanica</i> y <i>P. americana</i> inoculadas con huevos larvados de <i>T. canis</i>	32
Table 5. Distribución de grupos de ratas infectadas oralmente cucarachas completas <i>B. germanica</i> y <i>P. americana</i> inoculadas con huevos larvados de <i>T. canis</i>	34
Tabla 6. Distribución de grupos de ratas alimentadas con cucarachas completas <i>B. germanica</i> y <i>P. americana</i> salvajes.....	37

ABREVIATURAS

<i>T. canis</i>	<i>Toxocara canis</i>
<i>B. germanica</i>	<i>Blatella germanica</i>
<i>P. americana</i>	<i>Periplaneta americana</i>
HLTC	Huevos larvados de <i>Toxocara canis</i>
AgSET	Antígenos de secreción-excreción de <i>Toxocara canis</i>
ASB	Albumina Sérica Bovina
°C	Grados centígrados
kDa	Kilo daltons
DO	Densidad óptica
ELISA	Ensayo inmunoenzimático
g.	Gramos
ID	Índice diagnóstico

Ig	Inmunoglobulina
L2	Larva 2
μl	Microlitro
PBS	Solución salina amortiguadora con fosfatos
PI	Pos-infección
PM	Peso molecular
RPMI	Medio de Cultivo celular
SDS	Duodecil sulfato de sodio
SDS-PAGE	Gel de electroforesis de poliacrilamida-duodecil sulfato de sodio
WB	Western blot

RESUMEN

El presente estudio demuestra la capacidad de las cucarachas *Blattella germanica* (*B. germanica*) y *Periplaneta americana* (*P. americana*) de diseminar y transmitir fases infectantes de *Toxocara canis* (*T. canis*) a hospederos paraténicos. Se inocularon cucarachas de las especies *B. germanica* (n=150) y *P. americana* (n=120) con huevos larvados de *Toxocara canis* (HLTC), diariamente durante 10 días, se colectó toda la materia fecal de cada grupo y especie para contar el número total de estructuras parasitarias presentes (huevos larvados de *T. canis*, huevos no larvados, larvas libres y cascarones). En general se detectaron estructuras parasitarias durante los primeros seis días posinoculación (PI). Los días que se detectaron mayor número de estructuras fue el 1 y 2 PI, posteriormente el número fue disminuyendo hasta no detectarse ninguna estructura.

Para demostrar que las fases eliminadas fueron infectantes, se utilizó como modelo de un hospedador paraténico a las ratas; a estas, se les administró por vía oral individuos completos o heces de ambas especies de cucarachas que habían sido inoculadas de manera previa con huevos larvados de *T. canis* a diferentes periodos (1, 2, 3, 6 o 10 días PI). Se tomaron muestras de sangre de todas las ratas a los 0, 7, 14 y 21 días posinfección (pi) para medir por ELISA y WB los títulos de anticuerpos anti-antígenos de secreción excreción de *T. canis* (Anti-AgSET) presente en el suero. Todas las ratas fueron eutanizadas a los 21 días de la administración del tratamiento, y se colectaron cerebro, pulmones, riñones e hígado. Un pulmón, un riñón, la mitad de hígado y la mitad de cerebro de cada rata, se digirieron artificialmente y se contó el número total de larvas presentes en el digerido. El otro pulmón, riñón, mitad de hígado y

mitad de cerebro de cada rata se fijaron en formol al 4% y se procesaron por histología convencional. Se recuperaron larvas en los tejidos de las ratas que ingirieron heces o cucarachas completas hasta de 6 días pi. El mayor número de larvas recuperadas de los tejidos ($p < 0.05$) fue en ratas infectadas con heces de cucarachas de un día PI, independientemente de la especie de cucaracha.

La infección de las ratas con cucarachas completas de ambas especies o con sus heces mostraron un incremento en el nivel de anticuerpos anti-AgSET a los 14 y 21 días pi. En general el mayor incremento ($p < 0.05$) en los títulos de anticuerpos se observó en las ratas que fueron infectadas con heces o con cucarachas completas de 1 o 2 días PI con los HLTC. Los sueros de las ratas que recibieron heces de cucarachas reconocieron cuatro bandas de los AgSET (120, 50, 35 y 28 kDs) igual que los sueros de las ratas que recibieron 500 HLTC (testigo positivo), los sueros de las ratas que ingirieron cucarachas completas reconocieron tres bandas (120, 50 y 28 kDs). Solo se observaron lesiones y larvas en los órganos de las ratas inoculadas con heces de cucarachas de 1, 2, 3 y 6 días pi. Las lesiones observadas fueron similares a las reportadas en estudios de otros modelos experimentales.

La inducción de anticuerpos séricos específicos, la presencia de larvas en los tejidos y las lesiones características asociadas a la migración de estas larvas en los órganos de las ratas que ingirieron adultos completos o heces de *B. germanica* o *P. americana* que ingirieron huevos, muestran claramente la capacidad de estas especies de cucarachas para transmitir *T. canis* a los hospederos paraténicos.

INTRODUCCIÓN

La toxocariosis canina es una parasitosis causada por la presencia y acción del ascárido *T. canis*, el cual utiliza como hospedador definitivo a los perros, principalmente a los cachorros (Acha, 2003; Cordero et al., 1999). Las larvas pueden afectar a muchos mamíferos que actúan como hospederos paraténicos, entre ellos: bovinos, porcinos, aves, equinos, roedores e incluso los humanos, es un agente causal de zoonosis (Quiroz 1984, Glickman et al., 1979).

TAXONOMIA DE <i>Toxocara canis</i>	
Reino:	<i>Animalia</i>
Phylum:	<i>Nemathelminta</i>
Clase:	<i>Nematoda</i>
Orden:	<i>Ascaroidea</i>
Familia:	<i>Ascaridae</i>
Género:	<i>Toxocara</i>
Especie:	<i>Canis</i>

Tabla 1. Taxonomía de *Toxocara canis* (Webster G., 1958)

MORFOLOGÍA

ADULTOS:

Los adultos de *T. canis* (Fig. 1) son helmintos cilíndricos, blanquecinos y con tonos marrón. Presentan dimorfismo sexual, las hembras miden de 5-18 cm, terminan en punta roma y poseen una vulva en el primer tercio de su cuerpo, son ovíparas y tienen una elevada prolificidad (Soulsby 1982; Quiroz, 1984). Los machos miden entre 4-10 cm, terminan en forma enroscada, presentan aletas caudales y dos espículas que emergen de la cloaca. Ambos en la parte anterior poseen tres labios, uno dorsal y dos subventrales en los cuales pueden tener un borde con pequeños dientes; además de un par de aletas cervicales, las cuales le dan su forma característica de punta de flecha (Cordero et al, 1999, Quiroz, 2003)



Figura 1. Gusano adulto de *Toxocara canis*.

<https://www.muyminteresante.es/salud/fotos/gusanos-invasores-del-cuerpo-humano/gusano7>

LARVAS

La forma infectante es el huevo con larva de segundo estadio (L2) (Fig.2), la cual se produce después de la muda de la L1 dentro del cascaron. Esta larva tiene una longitud aproximada de entre 360-436 μm , posee una superficie corporal estriada. En la parte anterior tiene la cavidad bucal con tres labios en la capsula bucal, continua el esófago el cual tiene un diámetro aproximado de 18-21 μm , este ocupa un tercio de la longitud total de la larva; este es seguido por un intestino el cual desemboca en el ano, el cual se encuentra en la parte subterminal de la larva (Nichols, 1956).



Figura 2. Larva 2 de *Toxocara canis*.

HUEVOS

Los huevos son de color amarillo blanquecino, subesféricos, poseen un cascarón grueso que tiene aspecto de fosetas lo cual aumenta su resistencia en el ambiente; los huevos miden aproximadamente entre 90X75 micrómetros (Cordero et. al., 1999, Quiroz 1996). La cubierta está formada por tres capas, quitinosa, lipóide y albuminosa.

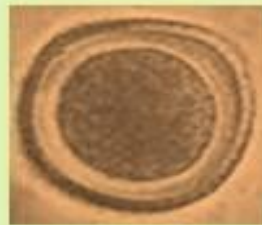


Figura 3. Huevo de *Toxocara canis*.

CICLO BIOLÓGICO DE *T. canis*

El ciclo biológico inicia con la eliminación de huevos en heces de los perros parasitados (principalmente cachorros), estos huevos son resistentes y duraderos en el ambiente. Sin embargo la exposición a la luz solar directa los puede matar. El desarrollo de la larva infectante requiere de 9 a 11 días a 24°C

y de tres a cinco días a 30°C en presencia de oxígeno y humedad relativa del 75% (Alba-Hurtado & Muñoz-Guzmán, 2011).

La infección ocurre cuando los perros, los humanos u otros hospederos susceptibles, ingieren huevos larvados, las larvas eclosionan en el duodeno y el segundo estadio larvario atraviesa la pared intestinal; las larvas pasan al flujo linfático o a capilares sanguíneos y por la vena porta llegan a hígado dos días después. Al cuarto día llegan a los pulmones viajando por la vena cava, corazón derecho y arteria pulmonar. A partir de este punto, la ruta de migración y desarrollo de las larvas varía dependiendo de que el huésped sea un perro joven o adulto, una perra gestante o un huésped paraténico como: roedores, aves, conejos, humanos, etc. (Cordero *et al*, 1999; Alba-Hurtado & Muñoz-Guzmán, 2011).

En perros adultos y huéspedes paraténicos, las larvas de segundo estadio (L2) que llegan a los pulmones, regresan al corazón y se distribuyen a través de la circulación sanguínea (migración somática), llegando principalmente al músculo estriado, hígado, pulmones, riñones y cerebro, donde permanecen en estado de latencia como larvas somáticas infectantes por años, hasta que mueren y se calcifican (Quiroz, 1988; Alba-Hurtado & Muñoz-Guzmán, 2011).

En los perros jóvenes (cachorros de menos de 12 semanas), las L2 abandonan los capilares pulmonares, penetran en los alveolos y migran por las vías respiratorias hasta la faringe, en donde son redegutidas (migración traqueal), durante su paso por los pulmones, tráquea y esófago se da la muda al tercer estadio. Las larvas permanecen un tiempo en estómago, hasta el día 10 pos-infección (pi). Posteriormente pasan a duodeno en donde tras la muda al cuarto y quinto estadio, se convierten en adultos sexualmente maduros entre los

días 19 y 27 días pi, tras la cópula, la eliminación de huevos en materia fecal comienza entre la cuarta y quinta semana pi (periodo de prepatencia).

Además de la infección pos-natal por la ingestión de huevos larvados, los cachorros muy frecuentemente se infectan pre-natalmente. Bajo la influencia de hormonas de la gestación como la prolactina (Chávez-Güitrón, 2016), las larvas somáticas infectantes en los tejidos de la perra gestante son reactivadas, atraviesan la placenta y penetran a los fetos entre los días 42 y 43 de la gestación, en el hígado fetal tiene lugar una muda, transformándose en larvas de tercer estadio, las cuales al nacer los cachorros, migran a los pulmones en donde permanecen durante la primera semana de vida, la muda al cuarto estadio se da durante esta etapa posteriormente cuando la larva llega al estómago por migración traqueal. Hacia el fin de la segunda semana, las larvas mudan al quinto estadio y se desarrollan rápidamente a adultos, por lo que la eliminación de huevos puede empezar en los cachorros a los 15 días de edad. Por otro lado en la perra gestante, las larvas somáticas infectantes también pueden llegar a intestino y desarrollarse a fase adulta pudiendo permanecer hasta por 60 días con eliminación de huevos en la materia fecal, o bien las larvas pueden llegar a la glándula mamaria y eliminarse en calostro y leche, constituyendo otra fuente de infección muy importante para la camada (Alba-Hurtado & Muñoz-Guzmán, 2011). Las larvas somáticas infectantes en los hospederos paraténicos pueden reactivarse cuando estos son depredados y pueden realizar una nueva migración somática en un nuevo huésped paraténico. Si el depredador es un perro adulto, las larvas somáticas infectantes del huésped paraténico se desarrollan a adultos en la luz intestinal, eliminando huevos por un tiempo breve en heces del perro adulto y posteriormente son eliminados en forma espontánea (Alba-Hurtado &

Muñoz-Guzmán, 2011). Se ha propuesto, que algunos insectos podrían ayudar a la diseminación de los huevos larvados de *T. canis*.

CICLO BIOLÓGICO

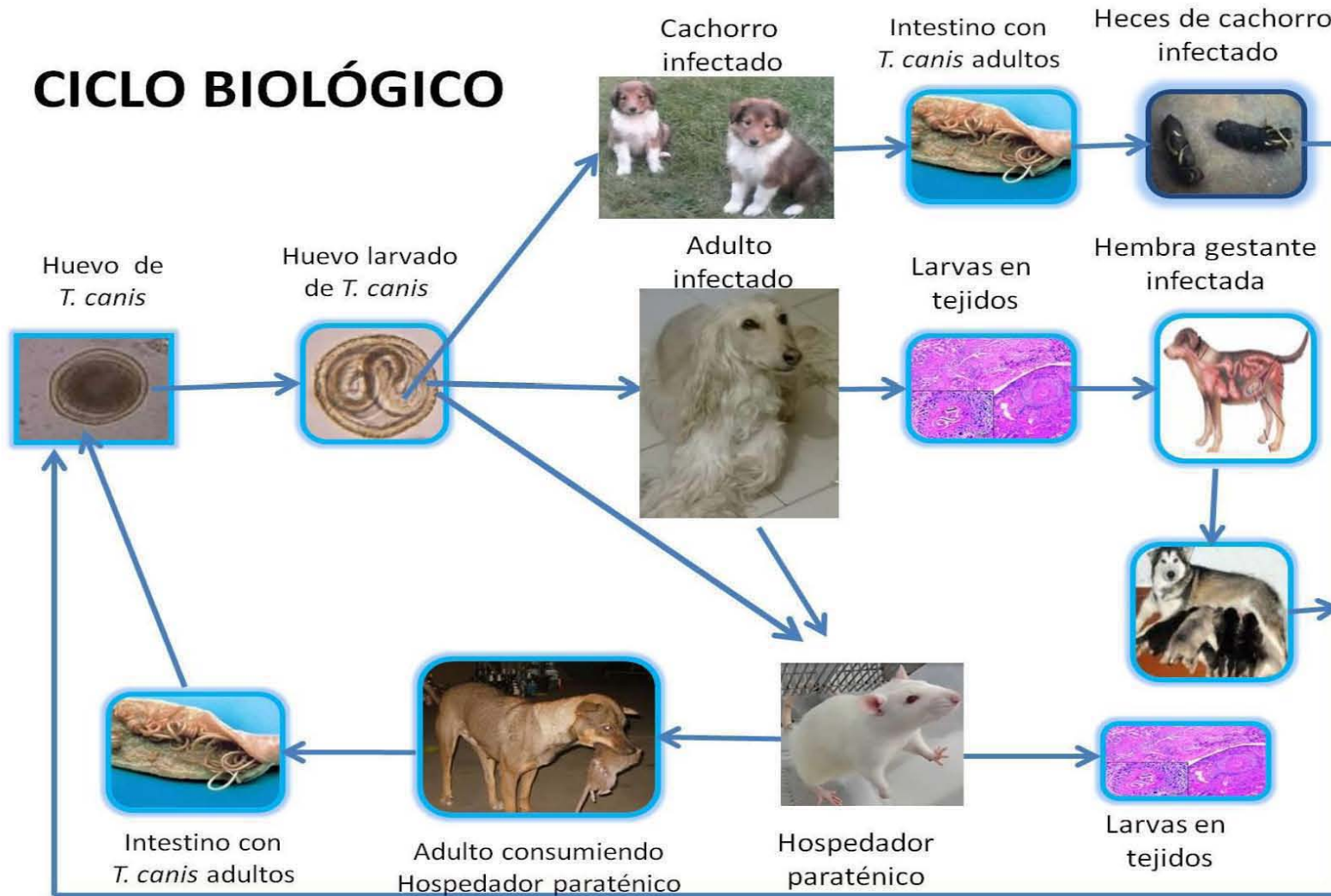


Figura 4. Ciclo biológico de *Toxocara canis*.

EPIDEMIOLOGÍA

La toxocariosis es una de las enfermedades parasitarias más importantes de perros y otros caninos. Su distribución geográfica es mundial, por su alta incidencia y patogenicidad al humano, es un importante problema de salud pública (Schantz *et al*; 1978; Despommier, 2003). Estudios realizados en México y en otros lugares del mundo muestran la alta incidencia de esta parasitosis en perros.

Los suelos son contaminados por las heces de canideos cachorros infectados, los huevos eliminados son altamente resistentes a diferentes desinfectantes y a las condiciones ambientales, siempre que tengan condiciones de humedad (Quiroz, 2003). Las hembras de *T. canis* son altamente prolíficas ya que depositan hasta 200 000 huevos diarios, lo cual favorece la presencia de este parásito (Shrand, 1964; Warren and Mahmoud, 1977).

La alta prevalencia de *T. canis* de igual manera es favorecida por la eficiencia en la transmisión prenatal, por lo que la mayor parte de los cachorros nacen infectados o adquieren la parasitosis durante la lactancia. En la Tabla 2 se muestra la frecuencia de la toxocariasis en diferentes lugares del mundo, los resultados son muy variables dependiendo de la procedencia, las condiciones de higiene o los métodos diagnósticos empleados.

REGIÓN	TIPO DE MUESTRA	No. DE CASOS	% DE PARASITACIÓN	REFERENCIA
EGIPTO	HECES	---	80.6%	Khalil, 1977
NIGERIA	HECES	---	18.55%	Fashuyi. 1981
CANADÁ	HECES	332	34%	Ghadirian et al., 1976
E.U.A.	HECES	182	49.5%	Marron & Schroeder, 1978
BRASIL	HECES Y NECROPSIA	158	44.3%	Chieffi & Muller, 1976
JAPÓN	HECES	15	86.6%	Matsumara & Endo, 1982
PAKISTAN	HECES	150	48.6%	Umar et al., 1986
ARMENIA	HECES	---	42.8%	Davidyants & Chobanyan, 1981
BÉLGICA	NECROPSIA	212	38.9%	Vanpajrijis et al., 1991
ESPAÑA	HECES	400	31%	Simón & Conde, 1987
PORTUGAL	HECES	100	36.3%	Arandas-Rego, 1980
NUEVA ZELANDA	HECES	147	2.8%	Dodge, 1980
CD.MÉXICO	NECROPSIA	470	19.8%	Eguia-Aguilar, 1998

Tabla 2. Frecuencia de *Toxocara canis* en el hospedero definitivo en diferentes países.

GENERALIDADES DE CUCARACHAS

Las cucarachas son un grupo de insectos cosmopolitas que incluye más de 4500 especies (Beccaloni, 2007). Estos insectos llevan más de 200 millones de años habitando el planeta, el registro fósil más antiguo que muestra insectos similares a las cucarachas pertenecen a la era del Paleozoico hace unos 300 millones de años. Estas primitivas cucarachas paleozoicas, llamadas Paleoblattaria tenían muchas de las características morfológicas típicas de las cucarachas actuales, entre otras estructuras, presentaban: alas primitivas, pronoto de escudo, cerci e hipogloso, piezas bucales (Labandeira, 2005). El periodo carbonífero es etiquetado como la era de la cucaracha por la alta diversidad ya que se han encontrado fósiles de hasta 800 especies diferentes, aunque algunos entomólogos dicen que el origen realmente fue en la era Silurica hace más de 400 millones de años (Copeland, 2003).

Taxonomía	
Reino:	Animalia
Phylum:	Arthropoda
Superclase:	Hexapoda
Clase:	Insecta
Superorden:	Dictyoptera
Orden:	Blattodea

Tabla 3. Taxonomía de los Blatelidos. <https://bugguide.net/node/view/31622>

El cuerpo de la cucaracha (Fig. 5) se compone de tres segmentos bilateralmente simétricos (de anterior a posterior: cabeza, tórax y abdomen), son ovoides y dorsoventralmente aplanadas, lo cual les es de gran utilidad por sus hábitos de esconderse en grietas (Gullan y Cranston, 2005; Copeland, 2003). Poseen un pronoto, la cabeza es hipognatosa, la mandíbula tiene piezas bucales dirigidas ventralmente y utilizadas para comer una dieta muy variada (Gullan y Cranston, 2005). Tienen ojos compuestos los cuales ocupan la parte lateral de la cabeza, las antenas son filiformes, articuladas y ocupan la hendidura antero-medial del ojo (Guthrie y Tindall, 1968). El meso y el metatórax son rectangulares, el primero sostiene las alas esclerotizadas llamadas tegmina (singular: tegmen), que protege las alas membranosas posteriores metatorácicas que se encuentran dobladas debajo (Gullan y Cranston, 2005). No todas las cucarachas tienen alas; en algunas están ausentes y en otras se nota una reducción de tamaño en las alas posteriores (Gullan y Cranston, 2005).

En el tórax se insertan seis patas espinosas con múltiples pelos y cinco tarsos pentámeros con almohadillas adhesivas llamadas pulvilli, que les permiten adherirse a casi cualquier superficie (Copeland, 2003; Gullan y Cranston, 2005), las cucarachas pueden detectar las vibraciones mediante órganos subgenuales ubicados en cada articulación de la rodilla.

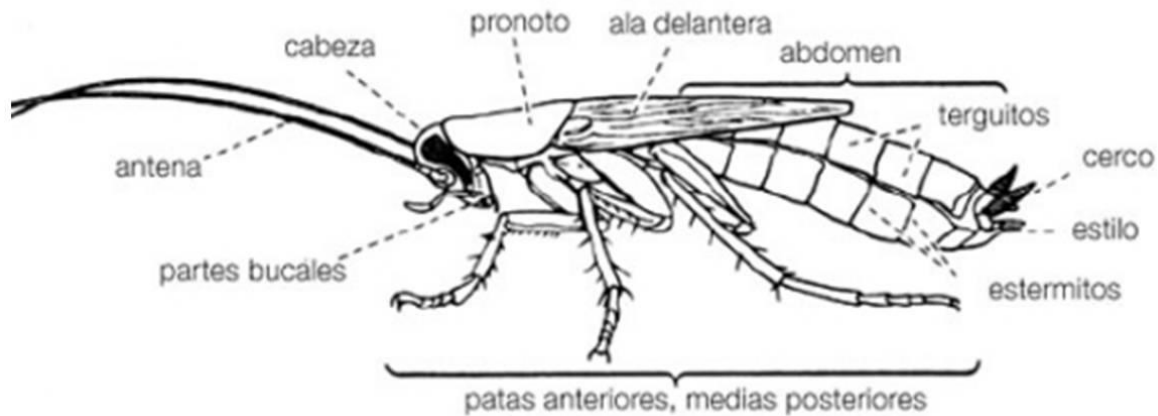


Figura 5. Anatomía básica de la cucaracha *Periplaneta americana*

https://wikicharlie.cl/w/Archivo:Anatomia_Cucaracha.jpg

Detrás del tórax está el abdomen con 10 segmentos visibles y multisegmentados (Gullan y Cranston, 2005). El abdomen masculino contiene genitales asimétricos, epiproctos (reliquias dorsal del segmento 11), el cerci, y debajo del cerci uno o dos apéndices delgados llamados estiletos. El abdomen femenino contiene el cerci y las pequeñas válvulas de oviposición ocultas debajo del tergito 10 (el décimo segmento dorsal) dentro de un poro genital (Guthrie y Tindall, 1968; Gullan y Cranston, 2005; Ramel, 2005). A lo largo del lado lateral del tórax y el abdomen están los espiráculos, aberturas externas del sistema traqueal para el intercambio de gases (Gullan y Cranston, 2005).

Ciclo de vida y reproducción

Las cucarachas son insectos hemimetábolos con tres etapas de desarrollo: huevo, ninfa y adulto (Gullan y Cranston, 2005). El apareamiento inicia con el cortejo de las cucarachas y el uso de feromonas por ambos sexos (Gullan y Cranston, 2005). En la cucaracha alemana, *B. germanica*, y en la cucaracha americana, *P. americana*, el cortejo incluye sacudida de ala y giro simultáneo de un macho, seguido de la secreción de feromonas a la hembra, que consecuentemente se mantiene en posición apropiada para el contacto genital (Nojima et al., 1999; Ramel, 2005; Tsai y Lee, 2000).

Las especies ovíparas ponen huevos en una Ooteca protectora, que puede ser transportada por la hembra hasta unos momentos antes de la eclosión o la puede liberar y dejarla en el sustrato. La apariencia y forma de colocación puede ayudar a la identificación de la especie de cucaracha. Las especies ovovivíparas tienen una forma especializada de reproducción en la que la ooteca se mantiene en el útero o en el saco de cría hasta la incubación ninfal. Otros ovovivíparos no forman una masa de huevos; en este caso, los huevos pasan directamente en el útero. La verdadera viviparidad es rara, aunque ha sido estudiada la cucaracha *Diploptera punctata*, esta cucaracha vivípara es capaz de producir leche nutritiva para alimentar a la descendencia durante el período de crianza (Williford et al., 2004). Al eclosionar del huevo, las ninfas se alimentan de las exuvias y excretas de las cucarachas que la colonia va dejando, ya que con este primer consumo inician la microbiota de su aparato digestivo. Las ninfas gradualmente se asemejan a los adultos en cada muda. Su desarrollo depende de la temperatura, la aglomeración, dieta (Roach & Rentz, 1997; Guthrie & Tindall, 1968), cambio de fotoperiodo (Zhu y Tanaka, 2004), y las influencias

sociales (Holbrook y Schal, 1998). En general, un desarrollo más lento conduce a una vida más larga (Moore et al., 2003).

Las características particulares de la cucaracha le ha permitido sobrevivir a muchos eventos de extinción, en parte debido a sus sistemas sensoriales bien desarrollados. Según Copeland (2003), una cucaracha puede tomar tan poco como 40 milisegundos para una respuesta de escape, así como detectar terremotos tan pequeño como 0.07 en la escala de Richter. Eisner (2003) demostró el comportamiento reflejo de las cucarachas, lo que demuestra que la cucaracha puede sentir los productos químicos con su superficie corporal, observó que una cucaracha decapitada aún responde al ácido rascando con precisión partes específicas del cuerpo donde el ácido fue aplicado. Además de ser utilizado para el cortejo, las antenas contienen células receptoras olfativas que responden a la dirección y tasa de cambio en la concentración de olor de los alimentos (Hinterwirth et al., 2004). Los mecanismos de defensa de la cucaracha incluyen secreciones químicas pegajosas o tóxicas, en respuesta a depredadores y parásitos y además silbidos a través de sus espiráculos.

Del mismo modo, una serie de estudios han demostrado la capacidad de la cucaracha para adaptarse a una amplia gama de entornos. De acuerdo con Block et al. (1998), la cucaracha alpina de Nueva Zelanda, *Celatoblatta quinquemaculata*, puede sobrevivir a periodos prolongados de temperaturas bajo cero (-5 °C a -9 ° C). Mira y Raubenheimer (2002) demostraron que las cucarachas asilvestradas poseen una mayor capacidad de almacenamiento de agua que las cepas de laboratorio además de que las cucarachas *Periplaneta americana* puede alterar el número de estadios de desarrollo, la densidad de

endosimbiontes que albergan, su tamaño y la capacidad de almacenamiento de agua.

La importancia médica de las cucarachas se ha enfocado al su papel como trasmisor de agentes etiológicos a los alimentos, además de las reacciones dermatológicas y asmáticas que producen (Baumholtz et al., 1997). Las tres especies más comunes que conviven con los humanos y sus animales domésticos son: *Blattella germanica*, *Periplaneta americana* y *Blatta orientali*.

HÁBITOS

Las cucarachas son importantes en los ecosistemas, muchas de ellas participan como organismos desintegradores (Waldbauer, 2003). Siendo omnívoros, se pueden alimentar prácticamente de cualquier materia orgánica, reciclando la materia vegetal y animal en descomposición, de igual forma son capaces de consumir celulosa usando enzimas especiales y restituir los compuestos abióticos a los ecosistemas (Waldbauer, 2003).

Su alimentación al ser tan variable, puede incluir materia fecal de perros y por lo tanto pueden llegar a ingerir huevos de *T. canis*. Recientemente se ha observado que cucarachas del género *Blattella* pueden mantener larvas de *T. canis* en sus tejidos (González y Omaña, 2012). Por lo que se ha propuesto que pueden diseminar el parásito o incluso que podrían actuar como hospederos paraténicos. Sin embargo, no se ha demostrado durante cuánto tiempo las pueden mantener en sus tejidos, si las larvas están viables en el intestino o en otros tejidos y lo más importante, si pueden transmitir el parásito a otros hospederos.

HIPÓTESIS

Las cucarachas *Blattella germanica* y *Periplaneta americana* pueden ingerir y posteriormente eliminar en heces o mantener en sus tejidos fases infectantes de larvas de *Toxocara canis*.

JUSTIFICACIÓN

Por lo anterior, en el presente trabajo se pretende infectar cucarachas de las especies *Blattella germanica* y *Periplaneta americana* con huevos larvados de *T. canis* y estudiar de manera sistemática durante cuánto tiempo eliminan los huevos ingeridos en heces y si estos huevos son infectantes. Además se pretende estudiar cuántas larvas mantienen en sus tejidos y si la ingestión de cucarachas por otros hospedadores es una fuente de contagio. Los resultados del presente estudio pretenden determinar el papel de dichas cucarachas en el ciclo biológico de *T. canis*.

OBJETIVOS

- Establecer y mantener colonias de cucarachas *Blattella germanica* y *Periplaneta americana* en la FES-Cuautitlán.
- Infectar experimentalmente cucarachas *B. germanica* y *P. americana* con huevos larvados de *T. canis*.
- Determinar la cinética de eliminación de huevos de *T. canis* en heces de las cucarachas *B. germanica* y *P. americana* infectadas experimentalmente.
- Evaluar la permanencia de larvas *T. canis* en los tejidos de las cucarachas *B. germanica* y *P. americana* infectadas experimentalmente.
- Determinar el potencial infeccioso para un hospedador paraténico (ratas) de los huevos eliminados en heces de las cucarachas *Blattella germanica* y *Periplaneta americana* infectadas experimentalmente con huevos larvados de *T. canis*.
- Medir el potencial infeccioso para un hospedador paraténico (ratas) de las cucarachas *B. germanica* y *P. americana* infectadas experimentalmente con huevos larvados de *T. canis*.
- Capturar cucarachas *B. germanica* y *P. americana* salvajes (de vida libre) y determinar si transmiten fases infectantes de *T. canis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

LUGAR DE REALIZACIÓN

El presente trabajo se realizó en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria (Laboratorio 1) y la Unidad de Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM.



Figura 6. Unidad de Investigación Multidisciplinaria Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Cucarachas

Se utilizaron cucarachas *B. germanica* de la cepa Orlando (aislada en 1940) y cucarachas *P. americana* de la cepa Texcoco (aislada en 2001), ambas cepas fueron donadas por el Laboratorio de Entomología y Acarología del Colegio de Posgraduados a cargo del Dr. Hussein Sánchez Arroyo. Las colonias se mantuvieron a una temperatura de 20-25 °C en contenedores de plástico con tubos de cartón como refugio y en semioscuridad. Se suministró alimento comercial para roedor (Rat Chow ®) y agua *ad libitum*, suministrada en bebederos para aves, acondicionados para facilitar su consumo.



Figura 7. Contenedores de plástico utilizados para el hábitat de las cucarachas *B. germanica* y *P. americana*.

Ratas

Se utilizaron ratas Wistar clínicamente sanas, de entre 7-8 semanas de edad y con un peso promedio de entre 170-200 g. Las ratas se alojaron en cajas de polipropileno. Se mantuvieron a una temperatura promedio de 22°C, con una humedad relativa de 30-70%, con ciclos de 12/12 de luz oscuridad. Se suministró alimento comercial para roedor y agua *ad libitum*. Este estudio fue aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación del programa de Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal de la UNAM.



Figura 8. Modelo experimental, rata Wistar macho.

Obtención de huevos larvados de *T. canis*.

Se obtuvieron gusanos adultos de *T. canis* a partir de cachorros de entre 2-4 meses de edad, eutanizados humanitariamente en el centro de control canino de Ecatepec, Estado de México. Del intestino delgado se obtuvieron los gusanos, estos fueron lavados con agua corriente y colocados en un frasco para su transportación. En el laboratorio se extrajo el útero de las hembras y se obtuvieron huevos de *T. canis*. Estos fueron suspendidos en solución salina fisiológica y se filtraron a través de una coladera de poro fino, se centrifugaron los huevos, desechando el sobrenadante mediante decantación, y la pastilla restante se resuspendió en una solución de formalina al 1% , se colocó en cajas petri y se incubó a 28°C durante aproximadamente 15 días en estufa bacteriológica según lo descrito por Ohima (1961).

Obtención y cultivo de larvas

La obtención se realizó mediante la técnica descrita por De Savigni (1975) y modificada por Bowman (1987). Se verifico el porcentaje de embrionación de los huevos incubados verificando el desarrollo de la L2. Al tener un porcentaje de embrionación superior al 70%, se procedió a lavar y centrifugar tres veces los huevos larvados, por último se resuspendieron los huevos con solución salina fisiológica (SSF) estéril. Posteriormente, dentro de la campana de flujo laminar se realizaron cuatro lavados con medio de cultivo para células RPMI 1640 amortiguado con HEPES a un pH de 7.2 con 100µl de gentamicina y glucosa al 1% (Maizels et al. 1984). Después se sometieron a una agitación utilizando un agitador magnético durante 10 minutos para provocar la

eclosión de los huevos. De esta suspensión se separaron las larvas viables por medio de un método modificado de migración larvaria de Baermann, para lo cual fueron utilizados microaparatos de Baermann estériles elaborados con canastillas fabricadas con papel filtro las cuales fueron suspendidas dentro de tubos de 50 mL. La suspensión obtenida se colocó dentro de la canastilla y dentro del tubo se agregó medio RPMI hasta que hiciese contacto con la parte inferior de la canastilla. Se incubó durante 24 h a 37°C en una estufa de CO₂, y se colectaron en la parte inferior del tubo las larvas viables, se realizó una segunda colecta pasadas 48h. Las larvas colectadas fueron colocadas en medio RPMI en cajas de cultivo celular (polipropileno) de 15 mL, con una concentración de 1000 larvas /mL.

Obtención de los Antígenos de secreción-excreción de *Toxocara canis* (AgSET)

Se colectó el sobrenadante de las cajas de cultivo mediante aspiración en condiciones de esterilidad dentro de la campana de flujo laminar. Se dejaron durante 10 min las cajas de manera inclinada para permitir que por gravedad las larvas quedaran en la parte inferior y poder obtener solo del medio de la parte superior los antígenos, se colocó posteriormente la misma cantidad de líquido retirado. El sobrenadante fue conservado en congelación, después de obtener una cantidad considerable, este fue concentrado 100 veces por medio de tubos concentradores Amicon con membranas de 10000 Da. Se determinó la concentración final de proteína mediante la técnica de Bradford (1976).

ELISA

Las pruebas de ELISA se realizaron utilizando la técnica de Coligan et al. 1994. La cantidad optima de antígeno, suero y conjugado para la realización de esta prueba, fue establecida mediante la combinación de diluciones seriadas entre ellas, tomando como criterio la máxima lectura en densidad óptica (DO) con el mínimo de color inespecífico de fondo. Se usaron placas de 96 pozos de poliestireno, las cuales se sensibilizaron alternadamente con AgSET y con medio RPMI similar al utilizado para el mantenimiento de las larvas. Las placas se sensibilizaron agregando 50 µl por pozo de una solución de 1 µg/mL de AgSET en buffer de bicarbonatos (pH 9.6) y la misma cantidad de medio de cultivo a los pozos sin antígeno. Posteriormente, las placas fueron lavadas con solución de PBS-tween 20 al 0.1% (PBS-T 0.1) y los sitios libres de la placa se saturaron con 150 µl de una solución de albúmina sérica bovina (ASB) al 3% en PBS (PBS-BSA 3%). Los sueros problema se diluyeron 1:200 en PBS-T 0.1 y se incubaron por duplicado en los pozos con AgSET y con medio de cultivo solo a razón de 50 µl por pozo durante 2 h a 37°C; después se realizaron lavados con PBS-T 0.1. Las placas se incubaron con un anticuerpo policlonal cabra anti-IgG conjugado con peroxidasa (Serotec No. 250612) a una dilución de 1:10.000 por 45 minutos a 37°C y las placas se volvieron a lavar con solución de PBS-tween 20 al 0.1% (PBS-T 0.1). El desarrollo del color se llevó a cabo agregando a cada pozo 100 µl de la solución reveladora (0.05% OPD, 0.1% H₂O₂ en solución reguladora de citratos) por 15 minutos a temperatura ambiente en obscuridad, la reacción se paró agregando 50µl de ácido ortofosfórico al 0.6%. Las placas se leyeron a una longitud de onda de 492nm, en un lector de ELISA (Labsystems; Modelo: Mutyskan Ascent). El valor obtenido de los dos pozos

con el suero y los que no tenían suero (D.O específica y no específica) se restaron para después tener el promedio y posteriormente transformarlo al porcentaje de absorbancia (%Abs) mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Abs} = \frac{(\text{D.O. del suero}) (100)}{\text{D.O. del suero control}}$$

Electroforesis en geles SDS-PAGE

Se utilizaron géles de poliacrilamida con duodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE), por el método de Laemmli (1970) con modificaciones. El equipo utilizado fue una cámara de electroforesis Mini-PROTEAN III (Bio-Rad®).

Los geles fueron preparados utilizando en el gel Separador un 10% de acrilamida en Trizma 0.375 M y pH 8.8; el gel concentrador se preparó con 4% de acrilamida en Trizma 0.125 M y un pH de 6.8. Los geles fueron preparados en un equipo Mini-PROTEAN II. La solución amortiguadora de corrimiento usada contenía trizma base 25mM, glicina 192mM y SDS al 0.1% (p/vol), a un pH de 8.3.

Las muestras de AgSET se diluyeron 1:1 en una solución amortiguadora de muestra a un pH de 6.8 (trizma base 62.5mM, SDS 2%, glicerol 10%, azul de bromogenol 0.002% y 2-mercaptoetanol 5%). Las muestras se calentaron en baño maría en ebullición durante 5 minutos. En cada corrimiento se incluyeron marcadores de peso molecular (MPM) preteñidos (Bio-Rad) y una vez que transcurrió este tiempo las muestras se colocaron en el gel y se corrieron

iniciando a 100 V con 250 mA y terminando a 350mA hasta que el frente del colorante migró al borde inferior del gel. Al finalizar el corrimiento, las proteínas separadas en los geles se transfirieron a papel de nitrocelulosa y fueron teñidos con nitrato de plata. El Peso Molecular (PM) de las proteínas obtenidas fue calculado comparando las bandas problema con un patrón de marcadores de un peso molecular conocido corrido en el mismo gel, se utilizó para el análisis el software GENETOOLS®. Los marcadores de peso molecular (MPM) corresponden a bandas de 250 kDa, 130kDa, 100 kDa, 70 kDa, 55 kDa, 35 kDa, 25 kDa, 15kDa y 10kDa. Para los geles de transferencia se usaron marcadores preteñidos. Los geles fueron mantenidos en metanol a 4°C.

Tinción de plata para geles de poliacrilamida

Los geles SDS-PAGE se sumergieron en 250 mL de metanol al 45% y ácido acético al 12% durante 30 minutos. Posteriormente los geles se lavaron 3 veces por 10 minutos, con etanol al 10% durante 30 minutos. Para retirar el glutaraldehído, se realizaron seis lavados con agua desionizada. Los tres primeros fueron de 30 segundos y los restantes de 10 minutos.

A continuación los geles se sumergieron en una solución DTT (DL-dithiotheritol, SIGMA D-0632), a una concentración de 10 µg/mL, durante 30 minutos. Posteriormente se retiró la solución de DTT y directamente se sumergieron en una solución de nitrato de plata 0.012 M (Stock 1.2M) durante 30 minutos. El exceso de nitrato de plata se eliminó, con dos lavados de agua desionizada.

El revelado de las bandas se realizó mediante lavados sucesivos de los geles con carbonato sódico y formaldehído (0.28 M carbonato sódico/ 0.0147 M HCOH) recién preparado, en agitación continua. Una vez desarrolladas las bandas, se aclaró el fondo del gel con el reductor de Farmer (1mL de $K_3Fe(CN)_6$ y 4 mL de $Na_2S_2O_3$). Por último los geles se lavaron con agua y se dejaron a 4°C en metanol al 30% para recuperar su tamaño original.

Inmunotransferencia y Western Blot

Después de realizar el SDS-PAGE de los AgSET, las bandas proteicas se transfirieron a membranas de nitrocelulosa colocándolas por debajo y por arriba del gel cubiertas por papeles filtro humedecido con amortiguador de transferencia (Tris 25mM, glicina 192mM, metanol al 20% v/v a un pH 8.3), se colocaron en la parte superior durante 48 h, placas pesadas para lograr la compresión de este sistema. Posteriormente las membranas se colocaron en una solución de ASB en PBS-Tween 20 al 1% durante 30 minutos a temperatura ambiente para bloquear las uniones inespecíficas de los anticuerpos. Las membranas bloqueadas se lavaron en PBS-Tween 20 al 0.3%, se secaron y cortaron en tiras de aproximadamente 5mm de ancho. Las tiras de membranas se incubaron durante dos horas con el suero problema a una dilución 1:500 en PBS-Tween 20 al 0.3%. Posteriormente cada membrana se lavó con PBS-Tween 20 (3X10 minutos) y un lavado con PBS y se incubaron con policlonal de cabra anti-IgG humana conjugado con peroxidasa (BIOSURCE®), a una dilución 1:1000 en PBS-Tween 20 al 0.3%. Para la visualización de las bandas, la nitrocelulosa se lavó de nuevo en PBS-Tween 20 al 0.3% y se hizo reaccionar

con el sustrato (0.035 g de Diaminobenzidina (DAB) y 7 μ l de H₂O₂ en 70 mL de PBS en oscuridad y sin agitación. La reacción se frenó con lavados en agua desionizada y se dejaron secar las membranas en oscuridad sobre un cristal.

Inoculación experimental de cucarachas

Para realizar la inoculación de las cucarachas se observó el comportamiento de cada una de las especies y así se determinó el número de individuos que se colocaron en cada uno de los grupos realizando pruebas con grupos de dos, cinco y diez individuos, así como cucarachas en frascos individuales. También se realizaron pruebas con distintos tipos de alimentos en los cuales se pretendía colocar el inóculo utilizando alimentos dulces, salados y con distintos aditivos (mermelada, cajeta, aceite de atún, etc.); se evaluó el nivel de consumo de los dos géneros de cucarachas además de la capacidad de retención en ellos del inóculo utilizado.

Debido a los hábitos gregarios de las cucarachas *B. germanica* se determinó que los grupos de cucarachas se conformaran por 10 individuos, los cuales fueron ayunados durante 24 h para posteriormente ofrecerles 0.5 g de pan de chocolate (debido a que esta especie prefiere alimentos dulces), a los cuales se les adiciono aproximadamente 3600 huevos larvados de *T. canis* (HLTC), los cuales estaban suspendidos en 300 μ l de agua. Cada grupo ingirió después de 24 h un aproximado de 0.2 g de pan con un aproximado de 1440 huevos, con lo cual cada cucaracha comió aproximadamente entre 140-150 HLTC.

Las cucarachas *P. americana* son insectos solitarios por lo que los grupos fueron solo de dos individuos y se les proporciono 0.4 g de pan blanco al cual se les adicionó 300 µl de cerveza con 3000 HLTC y fueron ofrecidos después de 24 h de ayuno. Los grupos de cucarachas consumieron aproximadamente 0.1 g de pan con aproximadamente 750 HLTC con lo que cada cucaracha en promedio ingirió de 350-400 HLTC.

Diseño experimental para evaluar la cinética de la eliminación de huevos de *T. canis* eliminados en heces de cucarachas *B. germanica* y *P. americana* infectadas experimentalmente.

Se utilizaron 170 cucarachas macho adultos de la especie *B. germanica* y 170 cucarachas macho adultos de *P. americana*. Las cucarachas *B. germánica* se dividieron en 17 grupos de diez cucarachas cada uno. Cada grupo se mantuvo por separado en frascos de vidrio con tapa de organza (Fig.9). A las cucarachas de 15 grupos (150 cucarachas) se les administro por vía oral de 140-150 HLTC por cucaracha, los dos grupos restantes (n=20) únicamente recibieron un placebo (pan de chocolate sin HLTC) y se utilizaron como grupo testigo.



Figura 9. Frasco con grupo de cucarachas *B. germanica*

Las cucarachas *P. americana* se dividieron en 85 grupos de dos cucarachas cada uno. Cada grupo se mantuvo por separado en frascos de vidrio con tapa de organza (tela). A las cucarachas de 60 grupos (120 cucarachas) se les administró por vía oral de 350-400 HLTC por cucaracha, los 25 grupos restantes (n=50) únicamente recibieron un placebo (pan de chocolate sin HLTC) y se utilizaron como grupo testigo.

Diariamente durante 10 días, se colectó toda la materia fecal de cada grupo y por microscopia directa se contó el número total de estructuras parasitarias presentes (huevos larvados de *T. canis*, huevos no larvados, larvas libres y cascarones).

Diseño experimental de la infección experimental de ratas con heces de cucarachas *B. germanica* y *P. americana* inoculadas experimentalmente con HLTC.

Se inocularon 120 machos adultos de la especie *B. germanica* con entre 140-150 HLTC y 200 machos adultos de la especie *P. americana* con 350-400 HLTC. Se colectó la materia fecal de todas las cucarachas a los días 1, 2, 3, 6, y 10 PI.

Se usaron 65 ratas machos de la raza Wistar de entre 170-200 g de peso (2 meses), estas, se dividieron en 13 grupos (n=5). Las ratas de cada grupo fueron tratadas como se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Distribución de grupos de ratas infectadas oralmente con heces de cucarachas *B. germanica* y *P. americana* inoculadas con huevos larvados de *T. canis*.

Ratas/Tratamiento		Cucarachas/Tratamiento	
Grupo (n=5)	Infección con:	<i>Blattella germanica</i>	<i>Periplaneta americana</i>
1	H	1 día post-ingestión de HLTC	---
2	H	2 día post-ingestión de HLTC	---
3	H	3 día post-ingestión de HLTC	---
4	H	6 día post-ingestión de HLTC	---
5	H	10 días post-ingestión de HLTC	---
6	H	---	1 día post-ingestión de HLTC
7	H	---	2 día post-ingestión de HLTC
8	H	---	3 día post-ingestión de HLTC
9	H	---	6 día post-ingestión de HLTC
10	H	---	10 día post-ingestión de HLTC
11	H	no inoculados	---
12	H	---	no inoculados
13	500 HLTC	---	---

H = 5 mg de heces de cucaracha

HLTC = Huevos larvados de *Toxocara canis*

Se extrajo 0.5 mL de sangre de todas las ratas a los 0, 7, 14 y 21 días PI, se obtuvieron sueros y se almacenaron a -20 °C hasta su uso. Por ELISA y WB se midieron los títulos de anticuerpos anti-AgSET presente en el suero de todas las ratas.

Todas las ratas fueron eutanizadas por dislocación de vértebras cervicales el día 21 pi. Se colectaron cerebro, pulmones, riñones e hígado. El hígado y cerebro se dividieron en dos partes. Un pulmón, un riñón, la mitad de hígado y la mitad de cerebro se pesaron por separado, se digirieron artificialmente y se contó el número total de larvas presentes en el digerido, los resultados se expresaron como número de larvas en cada órgano. El otro pulmón, riñón, mitad de hígado y mitad de cerebro se fijaron en formol al 4% y se procesaron por histología convencional. Los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina y se describieron las lesiones observadas

Diseño experimental de la infección experimental de ratas con cucarachas *B. germanica* y *P. americana* inoculadas experimentalmente con huevos larvados de *T. canis*.

Se inocularon 125 machos adultos de la especie *B. germanica* con entre 140-150 HLTC y 125 machos adultos de la especie *P. americana* con 350-400 HLTC. Para ofrecérselas a las ratas, se eutanizaron con CO₂ 25 cucarachas de cada especie, los día 1, 2, 3, 6, y 10 PI.

Se usaron 65 ratas machos de la raza Wistar de entre 170-200 g de peso (2 meses), estas, se dividieron en 13 grupos (n=5). Las ratas de cada grupo fueron tratadas como se presenta en el tabla 5.

Tabla 5. Distribución de grupos de ratas infectadas oralmente cucarachas completas *B. germanica* y *P. americana* inoculadas con huevos larvados de *T. canis*.

Ratas/Tratamiento		Cucarachas/Tratamiento	
Grupo (n=5)	Infección con:	<i>Blattella germanica</i>	<i>Periplaneta americana</i>
1	CC	1 día post-ingestión de HLTC	---
2	CC	2 día post-ingestión de HLTC	---
3	CC	3 día post-ingestión de HLTC	---
4	CC	6 día post-ingestión de HLTC	---
5	CC	10 días post-ingestión de HLTC	---
6	CC	---	1 día post-ingestión de HLTC
7	CC	---	2 día post-ingestión de HLTC
8	CC	---	3 día post-ingestión de HLTC
9	CC	---	6 día post-ingestión de HLTC
10	CC	---	10 día post-ingestión de HLTC
11	CC	no inoculados	---
12	CC	---	no inoculados
13	500 HLTC	---	---

CC= 5 Cucarachas completas *B. germanica* o *P. americana*

HLTC = Huevos larvados de *Toxocara canis*

Se extrajo 0.5 mL de sangre de todas las ratas a los 0, 7, 14 y 21 días PI, se obtuvieron sueros y se almacenaron a -20 °C hasta su uso. Por ELISA y WB se midieron los títulos de anticuerpos anti-AgSET presente en el suero de todas las ratas.

Todas las ratas fueron eutanizadas por dislocación de vértebras cervicales el día 21 PI. Se colectaron cerebro, pulmones, riñones e hígado. El hígado y cerebro se dividieron en dos partes. Un pulmón, un riñón, la mitad de hígado y la mitad de cerebro se pesaron por separado, se digirieron artificialmente y se contó el número total de larvas presentes en el digerido, los resultados se expresaron como número de larvas en cada órgano. El otro pulmón, riñón, mitad

de hígado y mitad de cerebro se fijaron en formol al 4% y se procesaron por histología convencional. Los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina y se describieron las lesiones observadas

Ingestión experimental de ratas con cucarachas *B. germanica* y *P. americana* salvajes

Se estandarizó el método de captura de cucarachas *B. germanica* y *P.americana*. Las cucarachas *B. germanica* (n=25) fueron colectadas en el refugio canino de la Fundación Manuel Lozada Cuellar ubicada en Bosques del Lago, Cuautitlán Izcalli Estado de México, en el centro de control canino de Ecatepec y Clínicas veterinarias en Cuautitlán Izcalli. La captura fue realizada mediante trampas para roedor las cuales contenían atrayentes y fueron colocadas de manera estratégica en lugares que tenían condiciones de confort para este tipo de cucarachas tomando en cuenta temperatura, humedad y accesibilidad a los alimentos (figura 10).



Figura 10. Trampas con cucarachas *B. germanica* en clínica verterinaria.

Las cucarachas *Periplaneta americana* (n=25) fueron capturadas en registros de drenaje del área de Churubusco en la Ciudad de México. Se utilizó

un sistema el cual es implementado para el control de plagas, el cual consiste en succionar, mediante una aspiradora comercial, las cucarachas que van saliendo del drenaje después de la aplicación de nebulizaciones de agua caliente en coladeras y registros cercanos (Fig. 11). Las cucarachas colectadas fueron enjuagadas y colocadas en un recipiente hasta su uso (Fig. 12).



Figura 11. Registro con desechos y cucarachas *P. americana*, y coladera para aplicación de las nebulizaciones.



Figura 12. Cucarachas *Periplaneta americana* de vida libre colectadas.

Se usaron 15 ratas machos de la raza Wistar de entre 170-200 g de peso (2 meses), estas, se dividieron en 3 grupos (n=5). Las ratas de cada grupo fueron tratadas como se presenta en la tabla 6.

Tabla 6. Distribución de grupos de ratas alimentadas con cucarachas completas *B. germanica* o *P. americana* salvajes.

Ratas/Tratamiento		Cucarachas/Tratamiento	
Grupo (n=5)	Infección con:	<i>Blattella germanica</i>	<i>Periplaneta Americana</i>
1	CC	5 Cucarachas de vida libre	---
2	CC		5 Cucarachas de vida libre
3	500 HLTC	---	---

CC= 5 Cucarachas completas *Blattella germanica* o *Periplaneta americana* salvajes.
HLTC = Huevos larvados de *T. canis*

Se extrajo 0.5 mL de sangre de todas las ratas a los 0, 7, 14 y 21 días PI, se obtuvieron sueros y se almacenaron a -20 °C hasta su uso. Por ELISA y WB se midieron los títulos de anticuerpos anti-AgSET presente en el suero de todas las ratas.

Todas las ratas fueron eutanizadas por dislocación de vértebras cervicales el día 21 PI. Se colectaron cerebro, pulmones, riñones e hígado. El hígado y cerebro se dividieron en dos partes. Un pulmón, un riñón, la mitad de hígado y la mitad de cerebro se pesaron por separado, se digirieron artificialmente y se contó el número total de larvas presentes en el digerido, los resultados se expresaron como número de larvas en cada órgano. El otro pulmón, riñón, mitad de hígado y mitad de cerebro se fijaron en formol al 4% y se procesaron por

histología convencional. Los cortes se tiñeron con hematoxilina-eosina y se describieron las lesiones observadas

RESULTADOS

En la Fig.13 se muestra la cinética de eliminación de las diferentes estructuras parasitarias (huevos, larvas y cascarones) en la materia fecal de las cucarachas *B. germanica* y *P. americana* inoculadas con HTLC. En general se detectaron estructuras parasitarias durante los primeros seis días PI. Los días que se detectaron mayor número de estructuras fue el 1 y 2 PI, posteriormente el número fue disminuyendo hasta no detectarse ninguna estructura. Las cucarachas alimentadas solamente con el vehículo no eliminaron ningún tipo de estructura parasitaria.

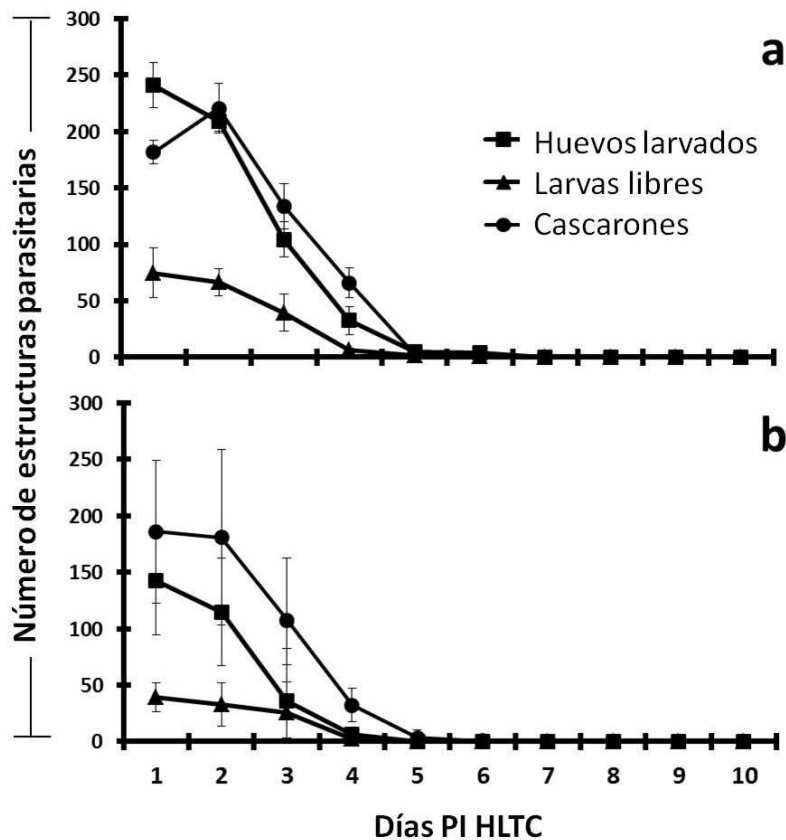


Figura 13. Media \pm desviación estándar de diferentes estructuras parasitarias eliminadas en heces de *Blattella germanica* y *Periplaneta americana* a diferentes días pos-inoculación con huevos larvados de *T. canis*.

La Fig.14 muestra el número de larvas recuperadas en los diferentes órganos de las ratas que fueron infectadas con heces de cucarachas o cucarachas completas *B. germanica* y *P. americana* inoculadas con huevos larvados de *T. canis* a los días 1, 2, 3, 6 y 10 PI. El mayor número de larvas recuperadas de los tejidos ($p < 0.05$) fue en ratas infectadas con heces de cucarachas con un día PI, independientemente de la especie de cucaracha. Se detectaron larvas en los tejidos de las ratas que ingirieron cucarachas *B. germanica* con 1, 2 y 3 días PI y en ratas que ingirieron cucarachas *P. americana* con 1, 2, 3 y 6 PI.

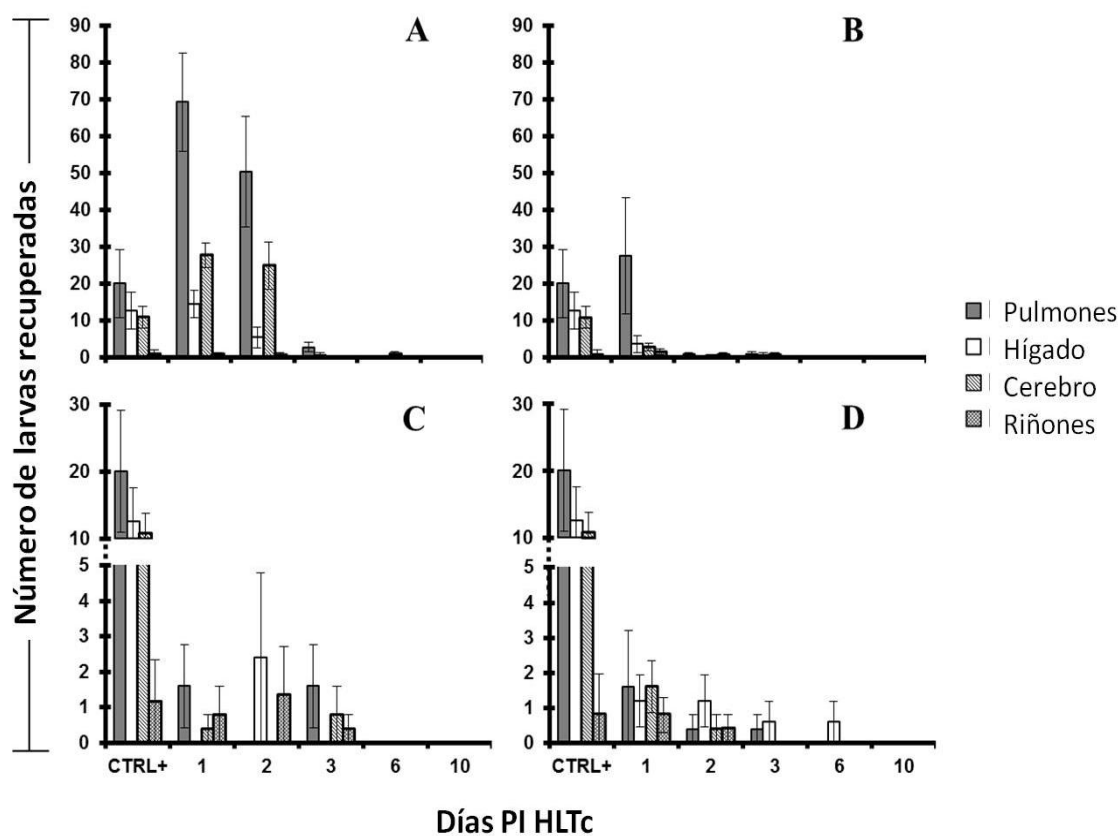


Figura 14. Media \pm desviación estándar de número de larvas recuperadas en diferentes órganos de ratas alimentadas con heces de cucarachas *B. germanica* (A), heces de cucarachas *P. americana* (B), cucarachas completas *B. germanica* (C) y cucarachas completas *P. americana* (D), inoculadas con huevos larvados de *T. canis* a distintos días pos-inoculación.

En la Fig. 15 se puede observar la cinética de la producción de anticuerpos Anti-Ag SET en sueros de ratas infectadas con heces de cucaracha o cucarachas completas *B. germanica* y *P. americana* inoculadas experimentalmente con huevos de *T. canis*. La infección de las ratas con cucarachas completas de ambas especies o con sus heces mostraron un incremento en el nivel de anticuerpos anti Ag SET a los 14 y 21 días PI. En general el mayor incremento ($p < 0.05$) en los títulos de anticuerpos se observó

en las ratas que fueron infectadas con heces o con cucarachas completas de 1 o 2 días PI con los HLTC.

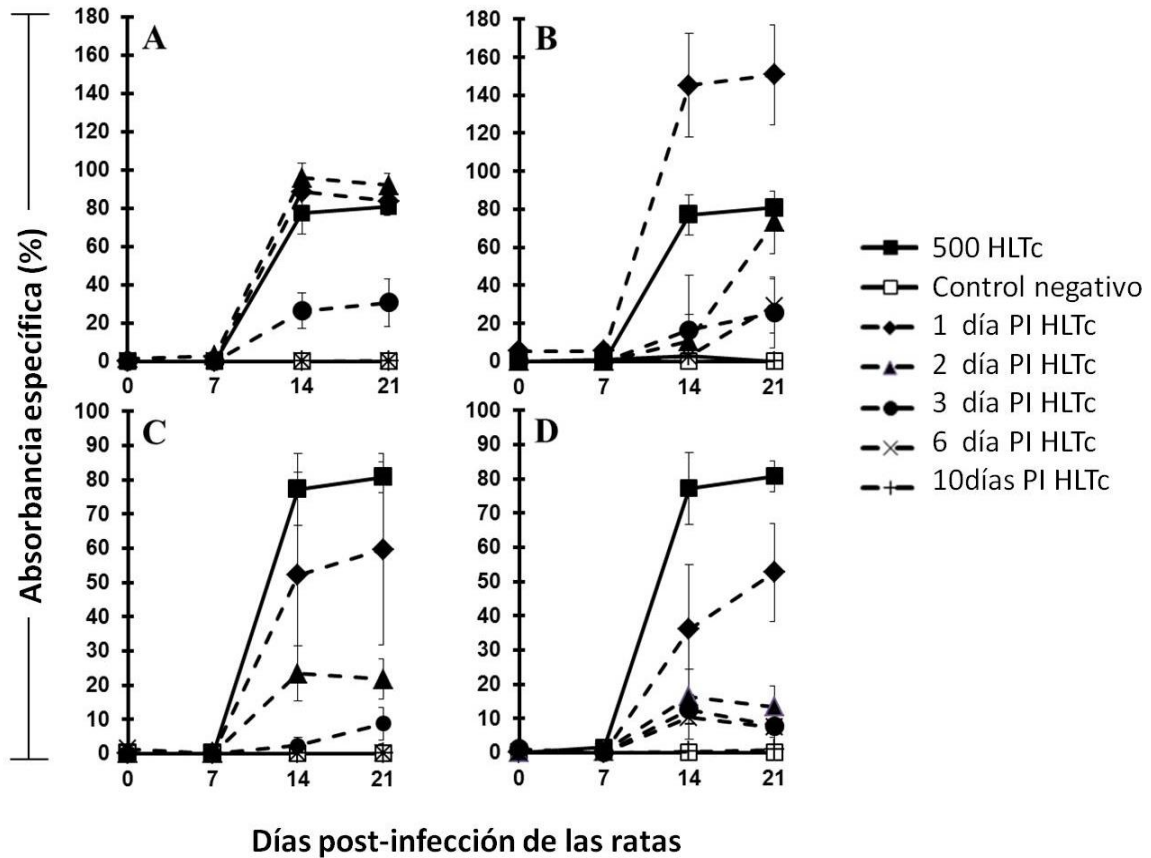


Figura 15. Media \pm desviación estándar de los niveles de IgG anti-Ag SET en ratas infectadas con heces de cucarachas *B. germanica* (A), heces de cucarachas *P. americana* (B), cucarachas completas *B. germanica* (C) y cucarachas completas *P. americana* (D) con 1, 2, 3, 6 y 10 días PI de huevos larvados de *T. canis* y un grupo testigo positivo inoculado con 500 HLTC.

Lesiones

En la necropsia, solo se observaron lesiones en las ratas inoculadas con heces de cucarachas colectadas a los 1, 2, 3 y 6 días PI. Las lesiones más evidentes se observaron en las ratas inoculadas con heces de cucarachas de 1 día de inoculación, la severidad de las lesiones disminuyeron en días posteriores. Las lesiones macroscópicas observadas fueron: en riñones e hígado (Fig.16 a,c,f) zonas hemorrágicas y manchas blancas que han sido denominadas puntos de leche (típicas en casos de toxocariasis), pulmones con manchas rojizas y protuberancias grisáceas de 1-3mm (Fig b-e) macroscópicamente el cerebro presentó zonas hemorrágicas.

Histológicamente el hígado, los pulmones y riñones presentaban zonas hemorrágicas con infiltrado leucocitario (fig.17 a y c). Se observaron algunas larvas las cuales estaban rodeadas en un granuloma con gran cantidad de fibrocitos, eosinófilos y otros leucocitos (Fig 17 c). En cerebro se encontraron larvas pero el infiltrado inflamatorio era casi nulo (17f).

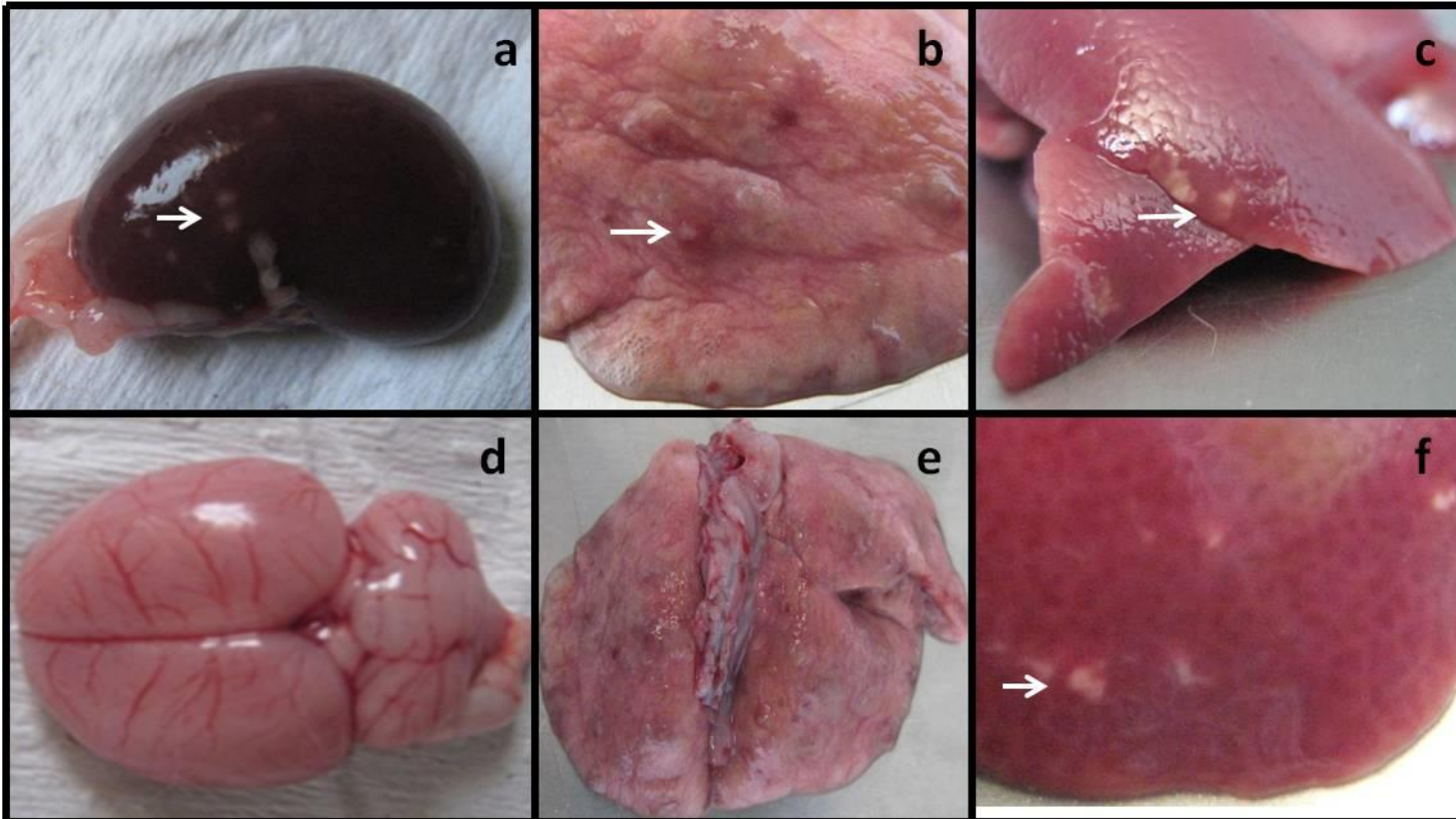


Figura 16. Lesiones producidas por infección experimental de ratas con heces de cucarachas *B. germanica* inoculadas con huevos larvados de *T. canis*. a,c,f) Puntos de leche en hígado, b,e) Protuberancias grisáceas y hemorragias en pulmones, d) cerebro con zonas hemorrágicas.

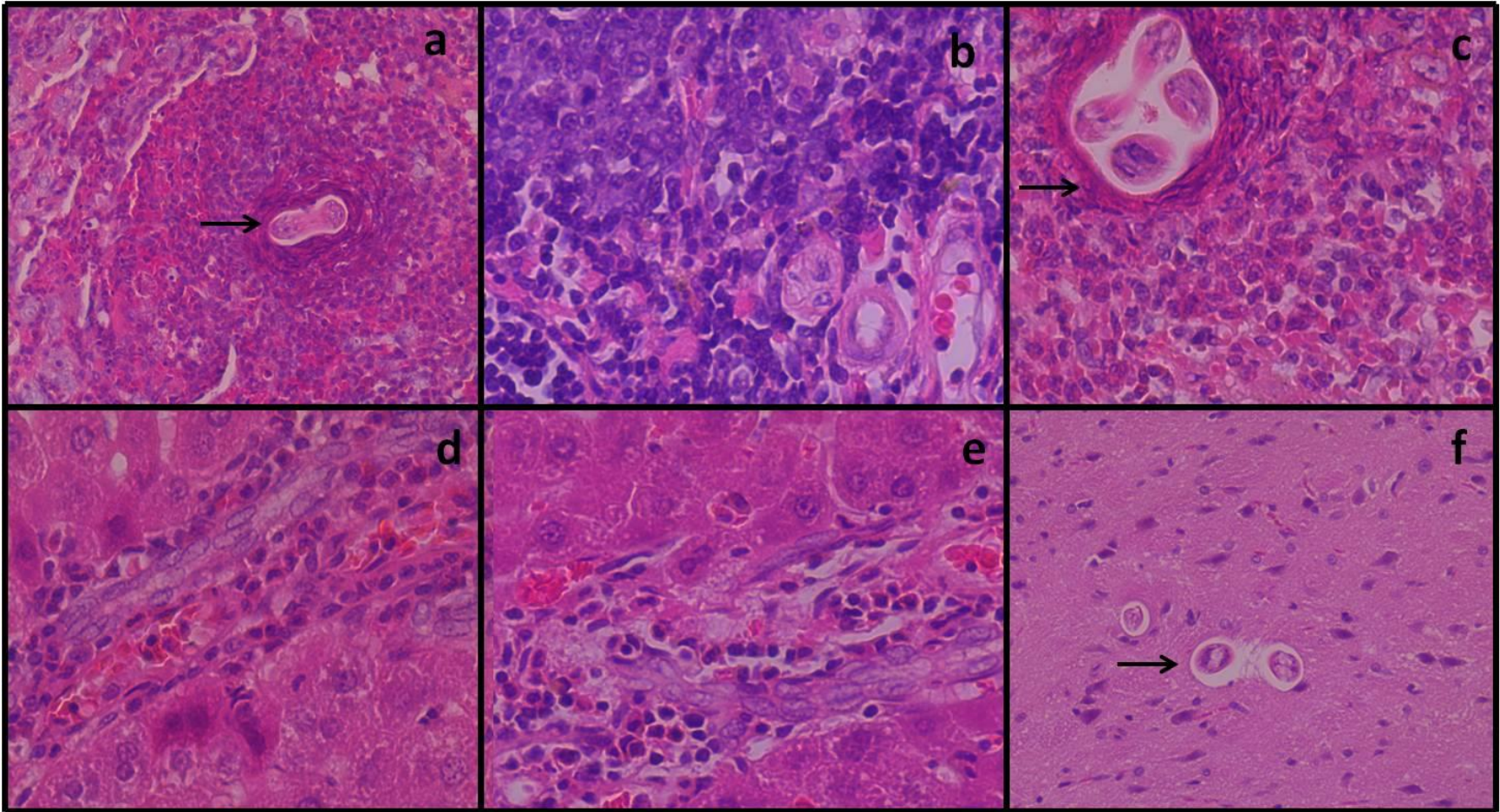


Figura 17. Lesiones producidas por infección experimental de ratas con heces de cucarachas *B. germanica* inoculadas con huevos larvados de *T. canis*. a,b,c) Pulmones con infiltrado leucocitario y larvas enquistadas, d,e) Hígado con infiltrado leucocitario y congestión, f) Cerebro con larvas sin respuesta inflamatoria.

En la Figura 18 se observa el porcentaje de absorbancia por medio de la prueba de ELISA de los sueros de las ratas que ingirieron cucarachas salvajes de las especies *B. germanica* y *P. americana*. Se observa un ligero incremento de los niveles de IgG anti AgSET en el día 14 PI, este incremento es menor ($p<0.05$) que el incremento producido en las ratas del grupo testigo positivo (inoculado con 500 HLTC).

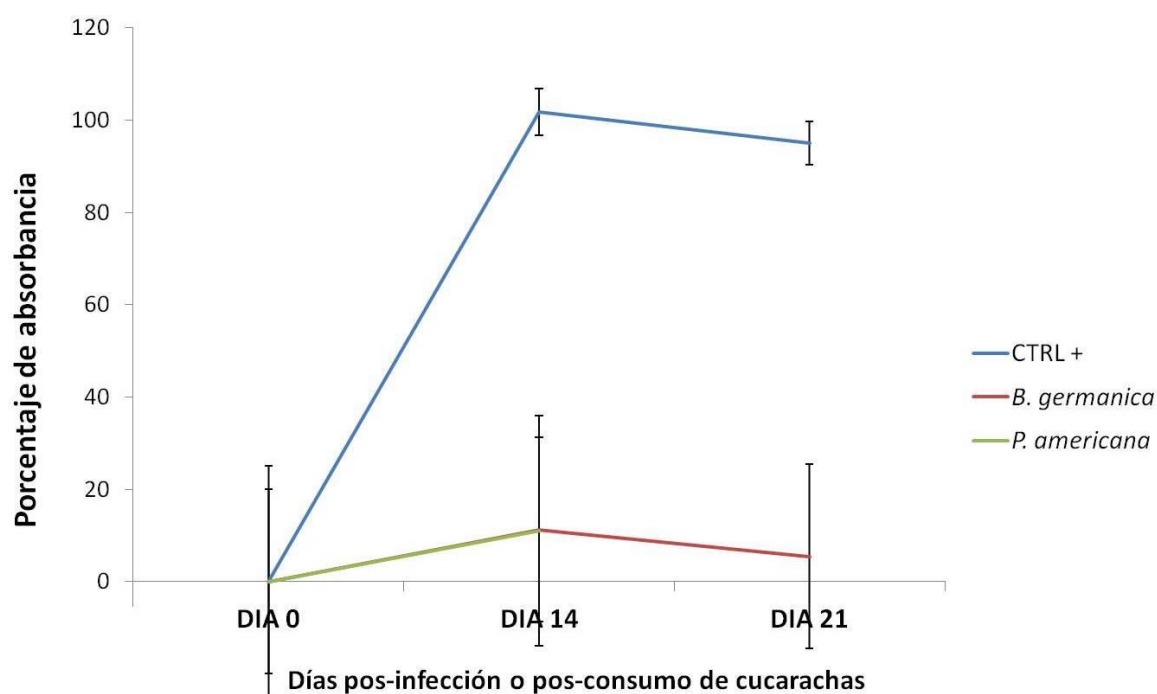


Figura 18. Porcentaje de absorbancia por prueba de ELISA, de los sueros (del día 0, 14 y 21 P.I.) de grupos de ratas inoculadas con cucarachas *B. germanica* y *P. americana* a diferentes días PI. Niveles de IgG anti-Antígenos de Secreción Excreción de *T. canis* en ratas inoculadas con cucarachas salvajes

No se encontraron larvas de *T. canis* en los digeridos de los órganos muestreados de las ratas que ingirieron cucarachas salvajes de ambas especies.

Figura 19. Se observa el análisis mediante WB del patrón de proteínas de los AgSET reconocidos por anticuerpos IgG en los sueros de ratas infectadas con heces de cucarachas o cucarachas completas *B. germanica* o *P. americana* inoculadas con HLTC, o con cucarachas *B. germanica* o *P. americana* salvajes. Se observa que los sueros de las ratas testigo positivo reconocen un patrón de 4 bandas proteicas (120, 50, 35 y 28 kDa). Los sueros de ratas infectados con heces de ambas especies de cucarachas reconocieron el mismo patrón proteico de AgSET que las ratas del grupo testigo positivo. Los sueros de las ratas que consumieron cucarachas completas de ambas especies solo reconocieron un patrón de tres bandas (120, 50 y 28 kDa). Los sueros de las ratas que consumieron cucarachas salvajes y de las ratas de los grupos testigo negativo no reconocieron ninguna banda proteica de los AgSET.

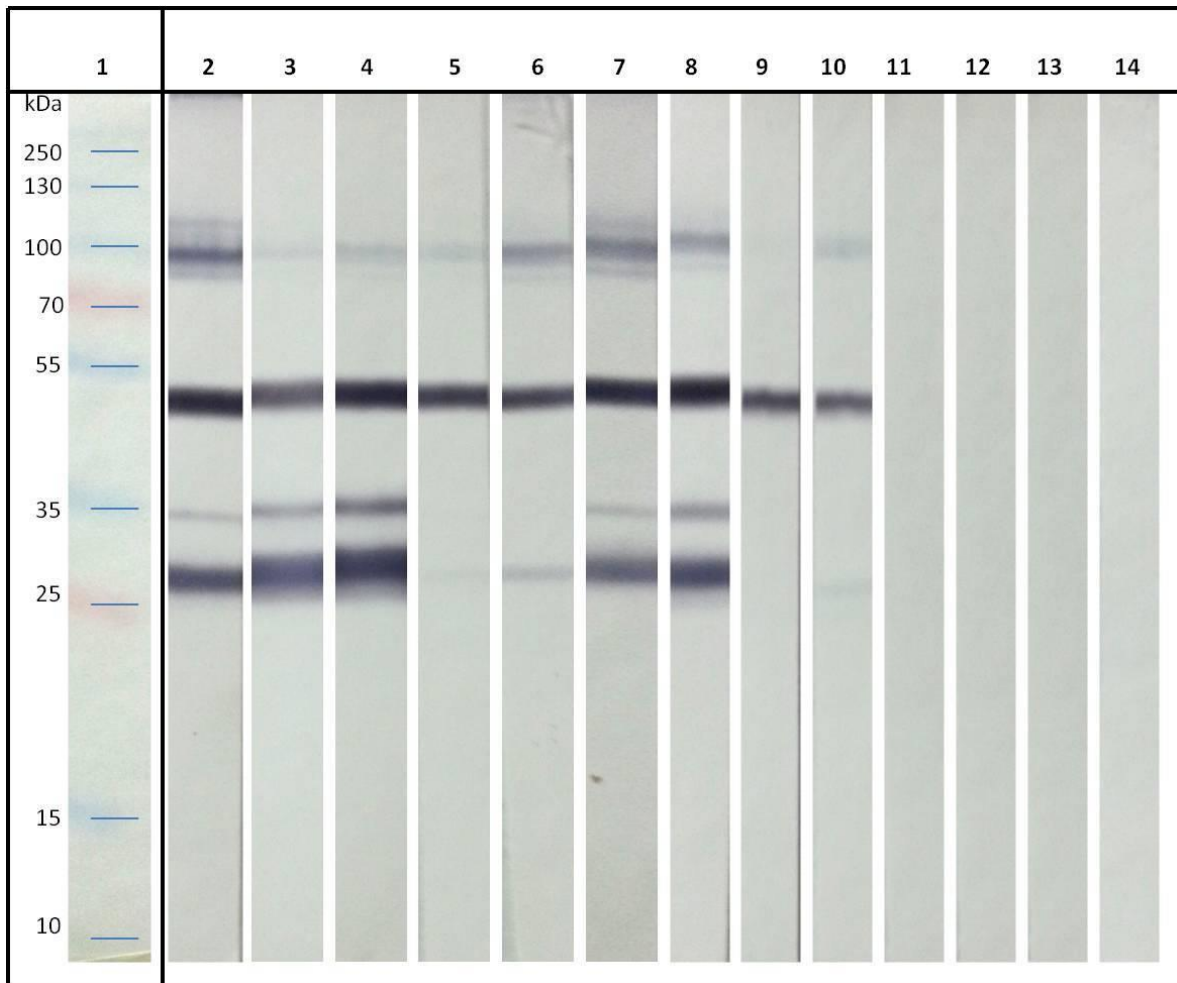


Figura 19. 1) Marcadores de peso molecular; 2) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con 500 huevos larvados de *T. canis*; 3, 4) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con heces *Battella germanica*; 5, 6) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas completas *B. germanica* 7, 8) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con heces de cucarachas *Periplaneta americana* 9 10) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas *P. americana*; 11, 12) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas *Blattella germanica* salvajes; 13) Patrón bandas de AgSET reconocidos por sueros de ratas inoculadas con cucarachas *P. americana* salvajes; 14) Patrón bandas de AgSET

DISCUSIÓN

El apetito indiscriminado de las cucarachas favorece la ingestión de material contaminado con importantes microorganismos (virus, bacterias, hongos, protozoarios y helmintos) causales de enfermedad en mamíferos. Se ha demostrado que las cucarachas actúan como hospederos intermediarios de algunos acantocéfalos, espiruloideos y cestodos o como transmisores mecánicos de una gran cantidad de protozoarios y helmintos (Ramírez-Pérez, 1989; Hamu et al., 2014). Los resultados de este estudio mostraron que *B. germanica* y *P. americana* pueden actuar como diseminadores de *T. canis*.

Las dos especies de cucarachas estudiadas pueden ingerir diversos tipos de materia orgánica, entre ellos heces (Fotedar et al., 1991; Graczyk et al., 2005; Pai et al., 2003). Se ha demostrado que las cucarachas pueden ingerir microorganismos, los cuales llegan al tracto digestivo donde entran en contacto con las enzimas y la microbiota intestinal, muchos no resisten el paso por el intestino, en contraste, otros sobreviven y son eliminados viables en heces. En este trabajo se estandarizaron las condiciones para la inoculación sistemática de las cucarachas, número ideal de cucarachas por grupo para cada especie y tipo de alimento para las cucarachas, que por un lado fuera apetecible para ellas y por el otro tuviera la capacidad de retener el inóculo (solución con un número conocido de HLTC). Después de muchas pruebas se logró que las cucarachas de ambas especies ingirieran el alimento con el inóculo que se les ofrecía y que cada cucaracha de la especie *B. germanica* ingiriera de 140 a 150 HLTC y las *P. americana* ingiriera de 350 a 400 HLTC. Esto permitió, no solo que se pudiera inocular un gran número de cucarachas en forma homogénea sino

también puede ser un método para inocular otros microorganismos a las cucarachas.

Los estudios de comportamiento biológico y patológico de *T. canis* en los hospedadores definitivos y paraténicos requiere la inoculación de HLTC en ellos. Existe un gran número de experiencias de inoculaciones experimentales en mamíferos y aves (Alba-Hurtado et al., 2000; Sarimehmetoglu et al., 2001; Sommerfelt et al., 2001; Morales et al., 2002; Alba-Hurtado et al., 2009), sin embargo, el número de infecciones en insectos es muy bajo. En este trabajo las dos especies de cucarachas que ingirieron huevos larvados de *T. canis*, eliminaron durante 6 días huevos larvados, la mayoría se eliminó los dos primeros días pos-inoculación. Los resultados muestran que los huevos de *T. canis* son capaces de resistir las enzimas y la microbiota del tracto digestivo de ambas especies de cucaracha, lo que sugiere que estas especies son capaces de participar como diseminadores mecánicos de *T. canis*.

Los huevos que eliminaron en materia fecal ambas especies de cucarachas eran morfológicamente similares a los inoculados y daban la apariencia de ser viables, sin embargo, la única forma de estar completamente seguros que son viables e infectantes es inocularlos directamente a un hospedador paraténico conocido. Se seleccionaron ratas por ser un hospedador paraténico ampliamente utilizado en estudios de inmunología y patología de la toxocariosis (Olson and Rose, 1966; Chieffi et al., 2009; Quiroz et al., 2013; Santos et al., 2017). En este trabajo se administró por vía oral a ratas materia fecal eliminada por ambas especies a diferentes periodos PI. Todas las ratas ingirieron la misma cantidad de materia fecal, pero por ser esta de diferente día pos-inoculación, presentaban

una cantidad diferente de huevos o larvas de *T. canis*. La forma más certera de determinar la infección de las ratas es por la por digestión órganos y conteo de larvas presentes en los digeridos. En este estudio se encontró que las ratas que ingirieron materia fecal eliminada por cucarachas con 1, 2, 3 y 6 PI con HLTC, presentaron larvas en sus tejidos y que la mayor cantidad larvas se presentó en la ratas que ingirieron heces de cucarachas de un día PI; lo que concuerda con lo observado en la cinética de eliminación de huevos. Lo anterior muestra que las cucarachas son capaces diseminar fases infectantes de *T. canis* a través de sus materia fecal.

Los hospedadores paraténicos con larvas de *T. canis* en sus tejidos pueden ser fuente de infección para hospedadores definitivos (perros) y otros hospedadores paraténicos, por ejemplo, se ha documentado la transmisión de rata a rata (Olso y Rose, 1966), lombriz de tierra a codorniz (Pahari y Sasmal, 1991) y pollo a humano (Morimatsu et al., 2006). En este estudio se encontró que las ratas que ingirieron cucarachas completas de hasta 6 días pos-inoculación con HLTC sufrieron una infección moderada, en contraste, las ratas que ingirieron cucarachas completas con 10 días pos-inoculación con HLTC no presentaron evidencia de infección (ausencia de larvas en tejidos y anticuerpos séricos específicos). En ambas especies de cucarachas, los huevos de *T. canis* presentes en el intestino, se eliminaron durante los primeros 6 días PI, por lo que la infección de ratas en los primeros días probablemente fue el resultado de la ingestión de larvas presentes en el intestino de las cucarachas. La ausencia de infección en ratas que ingirieron cucarachas con 10 días PI sugiere la ausencia de larvas enquistadas en los tejidos de las cucarachas. Adicionalmente, no se encontraron larvas cuando las cucarachas de 10 y 15 días PI fueron digeridas

artificialmente (datos no mostrados). Lo anterior indica que *B. germanica* y *P. americana* pueden actuar como vectores mecánicos de *T. canis*, sin embargo, no hubo evidencia de que puedan actuar como hospedadores paraténicos.

Las lesiones macroscópicas y microscópicas producidas por la infección con larvas de *T. canis* en los tejidos de hospedadores paraténicos ha sido ampliamente descrita en la literatura (Alba-Hurtado, 1999). En este estudio, observamos en ratas que ingirieron heces o cucarachas completas lesiones macroscópicas y microscópicas similares a las reportadas en otros hospederos paraténicos. También encontramos larvas de *T. canis* en cortes histológicos de cerebro, hígado, pulmón y riñón, lo que no deja duda que las cucarachas de ambas especies pueden diseminar el parásito.

Diversos autores han demostrado que la inoculación de huevos larvados y posterior infección con larvas de *T. canis* en diversos modelos experimentales induce la producción de anticuerpos específicos (Sarimehmetoglu et al., 2001; Sommerfelt et al., 2001; Morales et al., 2002; Alba-Hurtado et al., 2009). Una forma de determinar si las ratas se infectan por ingerir cucarachas completas o sus heces es medir el incremento de anticuerpos específicos. En este trabajo encontramos que la ingestión de cucarachas completas con hasta 6 días PI con HLTC o de sus heces, indujeron en las ratas incremento de la producción de anticuerpos séricos específicos anti-AgSET a partir del día 14 PI. Para confirmar la especificidad de los anticuerpos anti-AgSET se realizó el WB de los sueros de estas ratas, se observó un patrón similar de antígenos a los mostrados por las ratas infectadas con huevos larvados de *T. canis* (control positivo). La inducción de anticuerpos séricos específicos anti-AgSET confirma

que las ratas se pueden infectar con *T. canis* a partir de las heces o la ingestión de cucarachas completas y el potencial infeccioso de las cucarachas.

Con objeto de tratar de identificar cucarachas con infección natural, se capturaron cucarachas de vida libre (salvajes) en lugares donde estuvieran expuestas a la ingestión de materia fecal de perros. Las cucarachas *B. germanica* se colectaron de clínicas veterinarias y albergues de perros de la Ciudad de México, las *P. americana* se colectaron del sistema de alcantarillado. Aunque la ingestión de cucarachas salvajes completas incremento ligeramente los títulos de anticuerpos séricos estos no fueron específicos, puesto que por WB, los sueros no reconocieron ninguna banda de los AgSET. Lo anterior no significa que cucarachas salvajes no transmitan al parásito, puesto que la muestra fue muy pequeña y no representativa.

Se ha reportado la eliminación de huevos larvados de *T. canis* en *P. americana* PI con HLTC, sin embargo, no se evaluó su potencial infeccioso para un hospedero paraténico (Sasmal et al., 2008). La inducción de anticuerpos séricos específicos, la presencia de larvas en los tejidos y las lesiones características asociadas a la migración de estas larvas en los órganos de las ratas que ingirieron adultos completos o heces de *B. germanica* o *P. americana*, muestran claramente la capacidad de estas cucarachas para transmitir toxocariosis a los hospederos paraténicos.

El rol de estas especies de cucarachas en la transmisión de la toxocariosis puede estar asociada a sus hábitos y tipos de alimentación. *B. germanica* se encuentra comúnmente dentro de las cocinas, ingieren residuos de alimentos

frescos y comúnmente defeca cerca de ellos, mientras que *P. americana* se encuentra principalmente en el sistema de alcantarillado de viviendas e industria donde es más probable que ingiera materia fecal (Hedges, 1980; Ebeling, 1978). El establecimiento de infecciones en ratas a partir de cucarachas que ingirieron huevos larvados de *T. canis* abre la posibilidad de que estas puedan transmitir toxocariosis a una gran variedad de hospederos paraténicos incluyendo al humano.

CONCLUSIONES:

- Las cucarachas *B. germanica* y *P. americana* infectadas experimentalmente son capaces de eliminar huevos de *T. canis* durante los seis días posteriores a la inoculación.
- Los huevos eliminados en las heces de cucarachas *B. germanica* y *P. americana* infectadas experimentalmente tienen capacidad infectante al ser consumidas por un hospedador paraténico (rata)
- Las cucarachas *B. germanica* y *P. americana* infectadas experimentalmente con huevos larvados de *T. canis* son capaces de desarrollar toxocariasis al ser consumidas por un hospedador paraténico hasta por seis días pos-inoculación.
- Las cucarachas de vida libre al ser consumidas por un hospedador paraténico crearon anticuerpos inespecíficos contra otro tipo de helmintos por lo que resultaron negativos al WB.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acha, P. (2003). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización panamericana de la salud 3^a. Ed. Chile.
2. Alba, H.F. (2006) Manual de Laboratorio de Parasitología Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM.
3. Alba, H.F. y Muñoz, G.M. (2011). Ascariosis. En: F. Ibarra, J. Figueroa y H. Quiroz, ed., Parasitología Veterinaria 2°. Vol. México D.F.pp.81-86
4. Alba, H.F., Muñoz, G., Valdivia, A. Tórtora, J.L., & Ortega P. M. (2009). *Toxocara canis*: Larval migration dynamics, detection of antibody reactivity to larval excretory-secretory antigens and clinical findings during experimental infection of gerbils (*Meriones unguiculatus*). Exp. Parasitol. 122:1-5.
5. Arandas, R. A. (1980). Contamination of the soil in parks and gardens of Lisboa by eggs of *Toxocara canis* and other helminthes. Ann. Esc. Sup. Med. Vet. 22:152-162.
6. Baumholtz, M.A., Parixh, L.C., Witkowski, J. A., Nutting, W. B. (1997). The medical importance of cockroaches. Int. J. Dermatol. 36: 90-96.

7. Beccaloni, G.W. (2007). Blattodea species file online (Version 1.2/3.5).
[http:// Blattodea.speciesfile.org](http://Blattodea.speciesfile.org)
8. Bradford, M.M.A. (1976). A rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248-254.
9. Block, W., Wharton, D.A., Sinclair, B. J. (1998) Cold tolerance of a New Zealand alpine cockroach, *Celatoblatta quinquemaculata* (Dictyoptera, Blattidae). *Physiol. Entomol.* 23:1-6.
10. Bowman, D.D., Grieve, M.M. Grieve, R.B. (1987) Circulating Excretory- Secretory antigen levels and specific antibody response in mice infected with *Toxocara canis*. *Am J. Trop. Med. Hyg.* 36: 75-82.
11. Chávez-Güitrón, L.E., Morales-Montor, J., Muñoz-Guzmán, M.A., Nava-Castro, K.E., Ramírez-Álvarez, H., Moreno-Méndoza, N.A., Hernández-Cervantes, R., Alba-Hurtado, F. (2016). The *in vitro* effect of prolactin on the growth, motility and expression of prolactin receptors in larvae of *Toxocara canis*. *Vet. Parasitol.*, 224: 33-38
12. Chieffi, P. P., Aquino, R. T., Paschoalotti, M. A., Ribeiro, M. C. S., & Nasello, A. G. (2009). Muscular strength decrease in *Rattus norvegicus* experimentally infected by *Toxocara canis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 51(2), 73-75.

13. Chieffi, P. P. & Muller, E. (1976). Prevalencia de parasitismo por *Toxocara canis* em case e presence de ovos de *Toxocara spp.* No solo de localidades públicas de zonas urbanas do municipio de Londrina, Estado de Paraná, Brasil. Rev. Saúde. Publ. S. Paolo. 10: 367-372
14. Copeland, M. (2003) Cockroach. London: Reaktion Books Ltd. Eisner, T. (2003) For love of Insects. Cambridge, MA: Harvard U.P, Belknap Press.
15. Cordero, del C.M., Rojo, F., Martínez, A., Sánchez, C., Hernández S., Navarrete I., Diez P., Quiroz H. y Carballo M. (1999). Parasitología Veterinaria. Mc Graw Hill Interamericana. España.
16. Cordero, del C. M., Fenoy S., Aguila C., Guillen J.L. (1995). Cross reaction of sera from *Toxocara canis* infected mice with *Toxascaris leonine* and *Ascaris suum* antigens. Int J. Parasitol. 22:301-307.
17. Davidyants, V. & Chobanyan, A. (1981). Some aspects of the epizootiology and epidemiology of toxocariosis. Med. Parasitol. Trop. Med. 83-84
18. Despommier, D. (2003). Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. Clin. Microbiol. Rev. 16 (2): 265-272

19. De Saigny, D.H. (1975) In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of Toxocara ES antigen for use in serodiagnostic test for visceral larva migrans. J. Parasitol. 61: 781-782.
20. Dodge, J.S. (1980). *Toxocara canis* : The risk of infection. New Zealand Med. J. 651: 24-26.
21. Ebeling, W. Urban entomology. (1978). University of California Division of Agricultural Sciences Berkeley, CA.
22. Eisner, T. (2003) For love of Insects. Cambridge, MA: Harvard UP, Belknap Press.
23. Eguia-Aguilar, (1998). Análisis ecológico de comunidades de helmintos intestinales de perros obtenidos en centros de control canino del DF., México. Memorias del XII Congreso Nacional de Parasitología de Zacatecas, Zac.
24. Fashuyi, S.A. (1981). Diagnostic of gastro-intestinal helminths of dogs in Lagos area using the Kato-Katz technique. Bull Ann. Health. Prod. Afr. 29:333-335.

25. Fotedar, R., Shrinivas, U.B., Verma, A. (1991). Cockroaches (*Blatella germanica*) as carriers of microorganisms of medical importance in hospitals. *Epidemiol. Infect.* 107:181-187.
26. Ghadirian, E., Viens, P., Stroykowski, H. & Dubrevil F. (1976). Edidemiología de la toxocariosis en el área de Montreal. Prevalencia de *Toxocara* y otros helmintos en perros y tierra. *Can. J. Publi. Healt.* 67(6): 495-498.
27. Glickman, L.T., Schantz, P. M. & Cypess, R. (1979). Epidemiological Characteristics and clinical finding in patients with serologically proven toxocariasis. *Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 73: 254-258.
28. González, R.J. y Omaña O.M. (2012). Persistencia de larvas enquistadas de *Toxocara canis* en cucarachas *Blatella germanica* inoculadas artificialmente. Tesis de licenciatura. México. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
29. Graczyk, T.K., Knight, R. & Tamang, L. (2005). Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. *Clin. Microbiol. Rev.* 18:128-132.
30. Gullan, P.J & Cranston, P.S. (2005) The insects. An Outline of entomology. 3rd ed. Malden, MA, Oxford, Crlton, Aus.: Blackwell Publ. Ltd.

31. Guthrie, D. M. & Tindall, A. R. (1968) *The Biology of the Cockroach*. New York: St. Martin's Press.
32. Hamu, H., Debalke, S., Zemene, E., Brilie, B. (2014). Isolation of intestinal parasites of public health importance from cockroaches (*Blattella germanica*) in jimma town, southwestern Ethiopia. *J. Parasitol. Res.* 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/186240>.
33. Hedges, A. (1980). Flies, gnats and midges. *In* A. Mallis, *Handbook of pest control*. Franzak and Foster Co., Cleveland, Ohio. 621-685
34. Hinterwirth, A., Zeiner, R., & Tichy, H. (2004). Olfactory receptor cells on the cockroach antennae: responses to the direction and rate of change in food odour concentration. *Eur. J. Neuroscience* 19: 3389-3392.
35. Holbrook, G.L., & Schal, C. (1998) Social influences on nymphal development in cockroach, *Diploptera punctuate*. *Physiol. Entomology* 23: 121-130
36. Khalil H.N. (1967). Toxocariasis in Egypt. *J. Egypt. Pub. Health. Ass.* 52(5): 330-343
37. Labandeira, C.C. (2005) Pres. Comm. to P.J. Gullan May 9.
38. Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227: 680-685.

39. Maizels, R. M., Savigny, D. & Oglivie, B. M. (1984). Characterization of surface and Excretory-Secretory Antigens of *Toxocara canis* Infective Larvae. *Parasitol. Immunol.* 6: 23-34
40. Marron, J. & Schroeder, R. (1978). Survey of *Toxocara canis* infection rate in impounded dog in Los Angeles country. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 172 (6):713.
41. Matsumura, K. & Endo, R. (1982). Investigation of antibodies against *Toxocara canis* in naturally infected puppies. *Bak, Hyg. I. Abt. Orig.* 235: 139-143.
42. Mira, A., & Raubenheimer, D. (2002) Divergent nutrition-related adaptations in two cockroach populations inhabiting different environments *Physiol. Entomology* 27:330-339.
43. Moore, A. J. Gowaty, P.A., & Moore, P. J. (2003) Females avoid manipulative males and live longer. *J. Evol. Biol.* 16:523-530
44. Morales, O.L., Lopez, M. C., Nicholls, R.S., Aguedelo, M. G. (2002) Identification of *Toxocara canis* antigens by Western blot in experimentally infected rabbits. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 44:213-216.

45. Nichols, R. L. (1956). The etiology of visceral larva migrans. Diagnostic morphology of infective second- stage *Toxocara canis* larvae. *J. Parasitol.* 42 (4):349-362
46. Nojima, S., Sakuma, M., Nishida, R., & Kuwahara, Y. (1999) Aglandular gift in the German cockroach, *Blattella germanica* (L) (Dictyoptera:Blattellidae): The Courtship feeding of a female secretions from male tergal glands. *J. of Insect Behavior* 12 (5): 627-640.
47. Ohima, T. (1961). Standarization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on normal migration routes of the larva. *J. Parasitol.* 47: 652-657
48. Olson, L. J., & Rose, J. E. (1966). Effect of *Toxocara canis* infection on the ability of white rats to solve maze problems. *Experimental parasitology*, 19(1), 77-84.
49. Pai, H.H., Ko Y.C., Chen, E.R. (2003). Cockroaches (*Periplaneta Americana* and *Blattella germanica*) as potential mechanical disseminator of *Entamoeba histolytica*. *Acta Trop.* 87:355-359.
50. Quiroz, M. L. D., Viel, T. A., Papa, C. H. G., Lescano, S. A. Z., & Chieffi, P. P. (2013). Behavioral changes in *Rattus norvegicus* coinfectd by

Toxocara canis and *Toxoplasma gondii*. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 55(1), 51-53.

51. Quiroz, R. H. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos, LIMUSA. México, 1988.

52. Quiroz, R. H. (2003). Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Ed. Limusa. México.

53. Ramel, G. (2005) The Blattodea or Cockroaches. <<http://www.earthlife.net/insects/blatodea.html>> April 9, 2005.

54. Ramirez-Pérez J. (1989). The cockroach as a vector of pathogenic agents. Bol. Oficina Sanit. Panam. 107:41-53.

55. Roach, A.M.E, & Rentz, D.C.F. (1997) Blattodea: Cockroaches. Australian government Department of the Environment and Heritage. <http://www.deh.gov.au/cgi-bin/abrs/fauna/details.pl?pstrVol=BLATTODEA;pstrTaxa=1;pstrChecklistMode=1#intro> May 5, 2005.

56. Santos, S. V. D., Santos, F. H. Y., Lescano, S. A. Z., Santos, D. M. D., Tiago, É. D. S., Ribeiro, M. C. S. D. A., & Chieffi, P. P. (2017). Migration pattern of *Toxocara canis* larvae in experimentally infected male and female *Rattus norvegicus*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 50(5), 698-700.

57. Sarimehmetoglu, H.O., Burgu, A., Aycicek, H., Gonenc, B., Tanyuksel, M., Kara, M. Application of western blotting procedure for the immunodiagnosis of visceral larva migrans in mice by using excretory/secretory antigens. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 108: 390-392.
58. Schantz, M. P. Meyer, D. & Glickman, L.T. (1978); *Toxocara visceral larva migrans*. *New Engl. J. Med.* 298:436-438.
59. Shrant, M.P. (1964). Visceral larva migrans, *Toxocara canis* infection. *Lancet.* 1: 1357-1359
60. Simon, M.F. & Conde, G. L. (1987). Datos epidemiológicos sobre la toxocariosis y larva visceral emigrante en la provincia de Salamanca. V. *Cong. Nac. Parasitol. Salamanca.* 237-238.
61. Sommerfelt, I.E., Santillan, G., López, C., Ribicich, M., & Franco, A. J. (2001). Immunological and hematological response in experimental *Toxocara canis*-infected pigs. *Vet. Parasitol.* 96:127-216.
62. Soulsby, E.J. L. (1972) *Immunity to animal parasites*. Ed. Academic Press Inc.
63. Soulsby, E. J.: *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. Lea & Febinger, USA. (1982).

64. Tsai, C., & Lee, H. (2000) Circadian locomotor rhythm masked by the female reproduction cycle in cockroaches. *Physiol. Entomology* 25: 63-73
65. Umar, S., Rabbani, A., Mian, M., Afzal, M. & Saeed, K. (1986) Efficacy of levamisole, mebendazole and pyrantel pamoate against natural infection of *Toxocara canis* in dogs. *Pakistan. Vet. J.* 6(3):127-128.
66. Vanparijs O., Hermans L. & Flaes L. (1991). Helminth and protozoan parasites in dogs and cats in Belgium. *Vet. Parasitol.* 38(1): 67-73
67. Waldbauer, G. (2003) *What Good are Bugs: Insects in the Web of Life.* Cambridge, M. A: Harvard U.P.
68. Warren, K.S. and Mahmoud, A.A.F. (1977) Algorithms in the diagnosis and management to exotic diseases. *J. Infect. Dis.* 55:99-109.
69. Webster, G.A. (1958) A Report on *Toxocara canis* Werner, 1782. *Can J. Comp Med Vet Sci.* 22(8) 272-274.
70. Williford, A., Stray, B., & Bhattacharya, D. (2004) Evolution of a novel function: nutritive milk in the viviparous cockroach, *Diploptera punctata*. *Evol. & Develop.* 6 (2): 67-77.

71. Zhu, D., & Tanaka, S. (2004) Summer diapauses and nymphal growth in a subtropical cockroach: response to changing photoperiod. *Physiological Entomology* 29: 79-83.