

Flora indígena de cucarachas (Dictyoptera: Blattidae y Blattellidae): un análisis bacteriológico y ultraestructural

Claudio Sánchez^{1,2}, Francisco Hernández^{1,2}, Patricia Rivera³ y Olger Calderón^{1,2}.

¹ Centro de Investigación y diagnóstico en Parasitología (CIDPA), ² Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. ³ Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica.

Abstract: Intradomestic cockroaches (*Periplaneta americana* [Linnaeus 1753], *P. australasiae* [Fabricius 1775], and *Blattella germanica* [Linnaeus 1767]) were collected in a Day Care Center (CEN-CINAI) and four foodstores of the Central Market, San José, Costa Rica. *Enterobacter aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. gergoviae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Hafnia alvei*, and *Pseudomonas* sp. were isolated from bodywash of the insects and from their intestinal contents. Scanning electron microscopy observations of the body and negative staining specimens of intestinal contents and ultrathin sections of intestine show abundant morphotypes of bacteriae, include bacilli and curve-shaped rods, some of them with periplasmic fibers.

Key words: Cockroaches, *Periplaneta* spp., *Blattella germanica*, Scanning electron microscopy, transmission electron microscopy.

Las cucarachas domésticas constituyen uno de los grupos de insectos más antiguos, cuyos fósiles datan del periodo Carbonífero en la Era Primaria (Ramírez-Pérez 1989). Actualmente existen unas 3500 especies de las cuales sólo ca. 1% son intradomiciliares (Ramírez-Pérez 1989). Estas pueden actuar como vectores mecánicos y reservorios de organismos patógenos para el hombre y animales. Dentro de estos se pueden citar bacterias entéricas (Ramírez-Pérez 1989, Burgess & Chetwyn 1981, Stek 1982, Burgess 1984, Rueger & Olson 1969), *Mycobacterium* (Allen 1987), virus como Hepatitis A y Polio (Tarshin 1962, Burgess 1984), parásitos como *Toxoplasma* (Wallace 1972, Chinchilla & Ruiz 1976) y hongos como *Aspergillus fumigatus* (Burgess 1984). Aunque no son transmisoras específicas de estos microorganismos, sus hábitos alimentarios (alimentación hasta la saciedad, defecación simultánea y regurgitación de alimentos), su dieta omnívora y el hecho de ocultarse durante el día en sitios oscuros y húmedos como letrinas, alcantarillas y basureros, las favorecen en su desempeño

como eficientes vectores mecánicos de microorganismos (Ramírez-Pérez 1989, Burgess 1984).

La prevalencia de cucarachas intradomiciliares de Costa Rica no se conoce con certeza; sin embargo las especies más frecuentes en Costa Rica incluyen *Periplaneta americana*, *P. australasiae*, *P. brunnea*, *Blattella germanica* y *Leucophaea maderae* (Vargas & Fish 1973, Calderón-Arguedas 1993). Tampoco se conoce su respectiva flora indígena, por lo que se trató de hacer un análisis de la misma mediante cultivo bacteriológico y observación al microscopio electrónico.

MATERIAL Y METODOS

Cucarachas: Se colectaron 60 cucarachas domiciliarias en el Centro de Atención Integral Infantil del Barrio Sagrada Familia, San José, Costa Rica y en cuatro sodas del Mercado Central de San José, Costa Rica. La colecta se hizo colocando trampas en las cocinas de los

sitios muestreados. Las trampas se hicieron con frascos de vidrio de 4 litros de capacidad, con boca ancha (11.5 cm de diámetro), cuyo borde interno de impregnó de vaselina y como cebo se colocó un trozo de pan. Cada 24 horas se revisaron las trampas para recoger los insectos atrapados.

Bacteriología: Para el análisis de la flora externa, se lavaron los insectos con 10 ml de agua destilada estéril (ADE) El agua de lavado se centrifugó (3000 rpm/15 min) y el sedimento se inoculó en platos de Petri con agar Sangre (AS) y agar de McConkey (McC).

Para el estudio de la flora intestinal, se diseccionó el tubo digestivo de los ejemplares de *Periplaneta* colectados y se hicieron grupos de 5 intestinos, los cuales se maceraron en 10 ml de ADE. Los ejemplares de *Blattella germanica* se maceraron completos en ADE, también en lotes de 5 especímenes. Los macerados se concentraron por centrifugación y se inocularon en los medios de cultivo mencionados. Los platos se incubaron a 35 °C durante 18 a 24 h. Las bacterias aisladas se identificaron bioquímicamente (Quantum II, Abbot Labs.).

Microscopia electrónica: Para microscopia electrónica de rastreo (MER) se fijaron insectos completos en glutaraldehído (2.5 % en amortiguador de fosfatos) y osmio (1% en el mismo amortiguador) se deshidrataron, secaron en punto crítico y recubrieron de oro. También se procesó el contenido intestinal de algunos insectos, adhiriendo los materiales a fragmentos de vidrio recubiertos con poli-L-lisina (Hernández *et al.* 1986).

Para el análisis al microscopio electrónico de transmisión (MET), se procesaron fragmentos de intestino como se mencionó, excepto que una vez deshidratados se embebieron en resina, ésta se polimerizó y seccionó en un ultramicrotomo. Los cortes fueron teñidos con acetato de uranilo y plomo y analizados al MET. También algunas muestras fueron impregnadas en rejillas recubiertas con membrana soporte de formar y analizadas mediante tinción negativa con ácido fosfotúngstico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las cucarachas colectadas correspondieron a los géneros *Periplaneta americana*, *P. australasiae* y *Blattella germanica*. De ellas se pudo

aislar *Klebsiella* spp. *Enterobacter* spp., *Hafnia alvei* y *Pseudomonas* sp. (Cuadro 1).

CUADRO 1

Bacterias aisladas de superficie externa del cuerpo y de intestino^a de cucarachas, atrapadas en San José, Costa Rica

Cucaracha	Bacteria	Frecuencia ^b
<i>Periplaneta americana</i>	<i>Enterobacter</i> sp	5/13
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	8/13
	<i>Enterobacter agglomerans</i>	8/13
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^a	5/13
	<i>Klebsiella oxytoca</i> ^a	10/13
	<i>Pseudomonas</i> sp.	5/13
<i>Periplaneta australasiae</i>	<i>Enterobacter</i> sp. ^a	5/13
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	15/31
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^a	12/31
	<i>Klebsiella oxytoca</i> ^a	30/31
	<i>Hafnia alvei</i>	16/31
<i>Blattella germanica</i>	<i>Enterobacter</i> sp.	3/7
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ^a	6/7
	<i>Klebsiella oxytoca</i> ^a	7/7

a. Bacterias aisladas de intestino. De *P. americana* se aisló *Citrobacter freundii* y *Enterobacter gergoviae*, de *P. australasiae* también se aisló *Citrobacter freundii* y *Hafnia alvei*.

b. Positivos/Nº de especímenes analizados.

Por microscopia electrónica se encontró una gran variedad de morfotipos bacterianos en el contenido intestinal, los cuales también se observaron en los cortes ultrafinos de intestino, predominando los bacilos rectos, curvos con extremos redondeados, algunos con fibras periplásmicas; además bacterias espirales y levaduras (Figs 1-3).

Las bacterias aisladas de estas cucarachas concuerdan con los hallazgos hechos en otras latitudes (Burgess 1984, Burgess & Chetwin 1981, Rueger & Olson 1969, Stek 1982), lo que indica que pueden constituir parte de la flora indígena de estos insectos. Incluso *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* y *Enterobacter agglomerans*, tres de las bacterias que se aislaron con más regularidad tanto a partir de superficies corporales, como del intestino de las cucarachas, fueron descritas como las bacterias más frecuentes en microflora indígena de moscas *Anastrepha* (Murillo *et al.* 1990) lo que indica

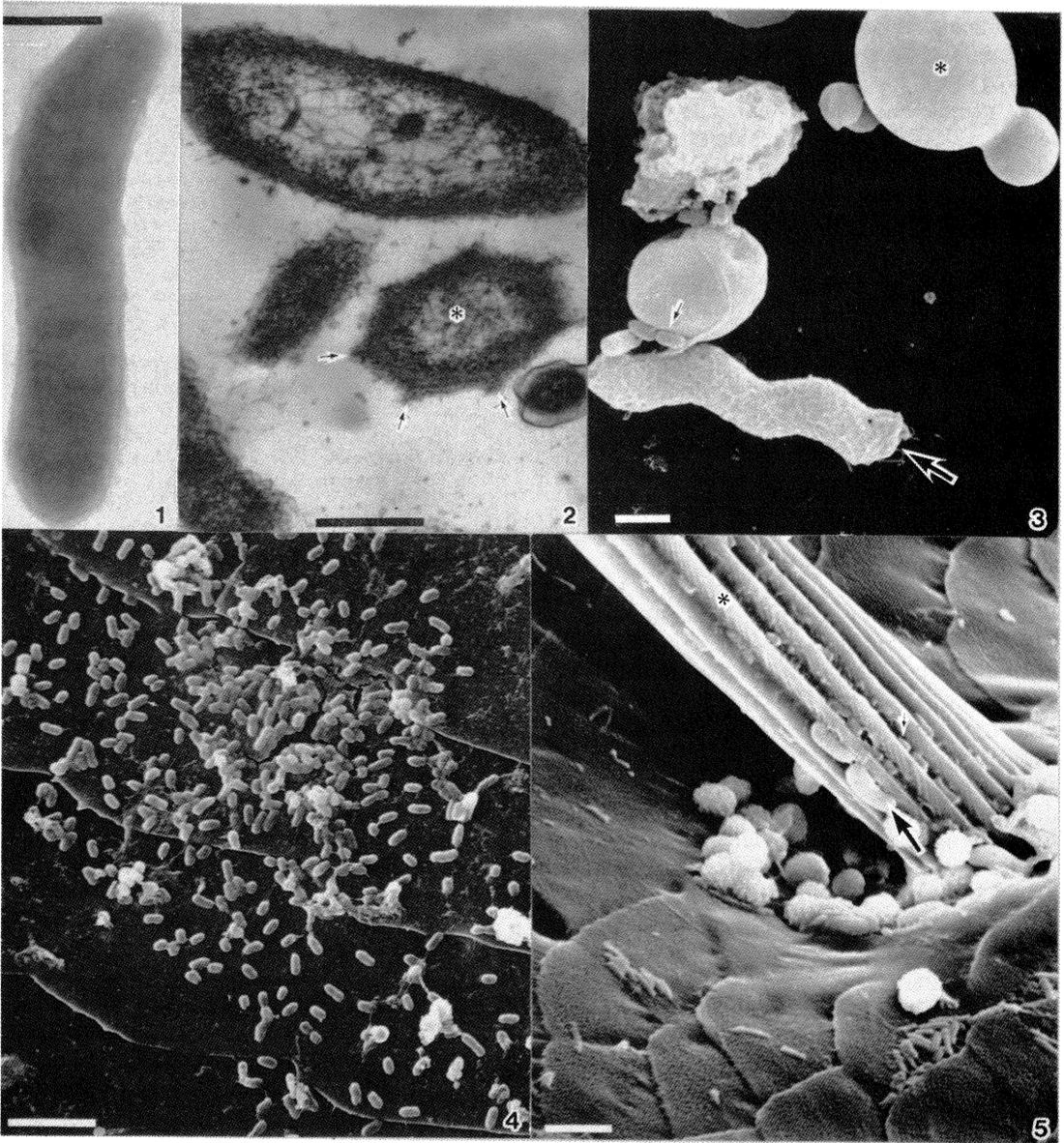


Fig. 1. Bacilo curvo en contenido intestinal de *Periplaneta* (tinción negativa, ácido fosfotúngstico). Barra = 0.25 μm . Fig. 2. Sección ultrafina de intestino de *Periplaneta*. B = Bacilo recto cortado longitudinalmente. Asterisco = Bacterias con fibras periplásmicas (flechas). Barra = 0.25 μm . Figs. 3 a 5. Micrografías electrónicas (MER). Fig. 3. Contenido intestinal de *Periplaneta*. Compárese el tamaño de la bacteria curva (flecha grande), con los pequeños bacilos adheridos a una estructura globosa (flecha pequeña) y con la levadura gemando (asterisco). Barra = 1 μm . Fig. 4. Bacterias adheridas a esternitos abdominales de *Periplaneta* Barra = 5 μm . Fig. 5. Bacilos adheridos a estructuras de la pata de *Periplaneta* Asterisco = seta, la flecha grande y la pequeña señalan bacilos grandes y pequeños respectivamente. Se observan otras bacterias adheridas a escamas. Barra = 5 μm .

que podrían estar muy difundidas como parte de la microflora normal de varias especies de insectos. Las observaciones al MER, mostraron verdaderas placas de bacterias adheridas al

abdomen y patas de las cucarachas (Fig 4,5), lo cual denota y corrobora la importancia de estos insectos en el transporte mecánico de bacterias. Razón por la cual han sido implicadas

previamente en varios brotes de infecciones nosocomiales (Allen 1987, Burgess y Chetwyn 1981).

Es posible que entre las bacterias curvas observadas al MET en el contenido intestinal y en las secciones de intestino puedan haber organismos patógenos, como *Campylobacter*, *Helicobacter* o *Arcobacter*, pues se encontraron morfotipos similares a estas bacterias (Vandanne *et al.* 1991). Pero no se aislaron, dado los requerimientos especiales de éstas, como son una atmósfera microaerofílica, temperaturas de incubación de 42 °C y medios de cultivo selectivos a base de antibióticos, para eliminar parte de la flora intestinal. Por lo tanto, es importante, considerar estos aspectos para definir más la flora indígena de las cucarachas.

RESUMEN

Se colectaron cucarachas intradomiciliares (*Periplaneta americana* [Linnaeus 1753], *P. australasiae* [Fabricius 1775], y *Blattella germanica* [Linnaeus 1767]) en un Centro de atención infantil (CEN-CINAI) y en cuatro sodas del Mercado Central, San José, Costa Rica. Las bacterias aisladas, tanto de lavados del cuerpo de los insectos, como de su intestino fueron *Enterobacter aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. gergoviae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Hafnia alvei* y *Pseudomonas* sp. Además por microscopia electrónica tanto en preparaciones de contenido intestinal como en cortes ultrafinos de intestino se observaron abundantes morfotipos bacterianos, incluyendo bacilos rectos y curvos, algunos de éstos con fibras periplásmicas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo de la Vicerrectoría de Investigación y de la Unidad de Microscopia Electrónica de la Universidad de Costa Rica. Uno de los autores C.S. fue becado en el X Curso regional de Microscopia Electrónica,

auspiciado por la Agencia Japonesa de Cooperación Internacional (JICA).

REFERENCIAS

- Allen, B. W. 1987. Excretion of viable tubercle bacilli by *Blatta orientalis* (the oriental cockroach) following ingestion of heat-fixed sputum smears: a laboratory investigation. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 81:98-99.
- Burgess, N. R. 1984. Hospital design and cockroach control. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 78:293-294.
- Burgess, N. R & K. N. Chetwyn. 1981. Association of cockroaches with an outbreak of dysentery. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 75:332-333.
- Calderón-Arguedas, O. 1993. Las cucarachas domésticas como inductoras de alergia. *Rev. Cost. Sal. Publ.* 2:34-37.
- Chinchilla, M & A. Ruiz. 1972. Cockroaches as possible transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. *J. Inf. Dis.* 126:545-547.
- Hernández, F., H. Akahori & F. Brenes. 1986. Soportes de vidrio recubiertos con poli-L-lisina para analizar materiales biológicos en partículas tanto al microscopio electrónico de rastroo como al de transmisión. *Rev. Biol. Trop.* 34:105-110.
- Murillo, T., P. Rivera, F. Hernández & L. F. Jirón. 1990. Indigenous microflora of the West Indies Fruit Fly, *Anastrepha obliqua* (Diptera:Tephritidae). *Fruits.* 45:626-631.
- Ramírez-Pérez, J. 1989. La cucaracha como vector de agentes patógenos. *Bol. of Sanit. Panam.* 107:41-53.
- Rueger, M. E & Th. Olson. 1969. Cockroaches (Blattaria) as vectors of food poisoning and food infection organisms. *J. Med. Entomol.* 6:185-189.
- Tarshis, B. 1962. The cockroach. A new suspect in the spread of infectious hepatitis. 11:705-711.
- Vandamme, P., E. Falsen, R. Rossau, B. Hoste, P. Seger, R. Tytgat & J. DeLey. 1991. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wollinella* Taxonomy: Emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 41: 88-103.
- Vargas, M., Fisk, F. 1973. Two new records of roaches invading houses in Costa Rica. *J. Med. Ent.* 10:411-412.
- Wallace, G. 1972. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by cockroaches. *J. Infec. Dis.* 126:545-547