FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela de Formación Profesional de Biología

PRESENCIA DE ENTEROBACTERIÁCEAS EN PARTES EXTERNAS DEL ESTADÍO ADULTO DE *Periplaneta americana* "CUCARACHA" CAPTURADAS EN EL MERCADO MODELO - IQUITOS 2014

TESIS

Requisito para optar el título profesional de

BIÓLOGO

AUTORES:

Xandrix Augusto Ruiz Cabezas

Pedro Enrique Chavez Charpentier

IQUITOS – PERÚ

2015

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR

Mblgo. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, Dr.

Presidente

Blga. Julia Bardales García, M.Sc.

Miembro

Blga. Mildred Magdalena García Dávila, Mgr.

Miembro

Blga. Blanca María Díaz Bardales, Dra.

Asesora

Blgo. Carlos Roberto Dávila Flores, Mgr.

Asesor

DEDICATORIA

A mí amada y querida mamá:

Norma Luz Cabezas Vela,

por todo el amor, consejo,

comprensión para encaminar

mi vida. ¡Te amo!

Xandrix A. Ruiz Cabezas.

A mis queridos padres por

brindarme su apoyo

incondicional en la

realización de la Tesis.

Pedro E. Chavez Charpentier

AGRADECIMIENTOS

A nuestros Asesores: Blga. Blanca María Díaz Bardales, Dra. por darnos toda la orientación y facilidad dentro del Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas, así como todos los consejos y tertulias compartidas; al Blgo. Carlos Roberto Dávila Flores, Mgr. por habernos brindado enseñanzas valiosas durante la ejecución del proyecto.

A nuestros amigos por su apoyo incondicional en todo momento compartido durante la ejecución de esta investigación. Y a todas aquellas personas que de una u otra forma nos brindaron su apoyo en las diferentes etapas de este trabajo.

ÍNDICE

Pág.

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR ii
ASESORES..... iii
DEDICATORIA iv
AGRADECIMIENTOS v
ÍNDICE vi
LISTA DE TABLAS..... vii
LISTA DE GRÁFICOS..... viii
LISTA DE ANEXOS ix
RESUMEN x
I. INTRODUCCIÓN 1
II. REVISIÓN DE LITERATURA 3
III. MATERIALES Y MÉTODOS 7
3.1. Área de estudio 7
3.1.1. Lugar de análisis microbiológico 7
3.2. Métodos 7
3.2.1. Colecta de *Periplaneta americana* "cucaracha" 7
3.2.2. Aislamiento de Enterobacteriáceas lactosa positiva y lactosa negativa.. 8
3.2.3. Identificación bioquímica de Enterobacteriáceas 9
3.2.4. Prevalencia de Enterobacteriáceas 9
3.3. Procesamiento y análisis de datos 9
IV. RESULTADOS 10
V. DISCUSIÓN 14
VI. CONCLUSIONES 19
VII. RECOMENDACIONES 20
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 21
IX. ANEXO 26

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla N° 01. Porcentaje de cucarachas colectadas y colonias aisladas…….10

Tabla N° 02. Prevalencia de Enterobacteriáceas lactosa positiva y lactosa negativa aislados en partes externas del cuerpo de *Periplaneta americana* "cucaracha"……..12

LISTA DE GRÁFICOS

Pág.

Gráfico N° 01. Porcentaje de cucarachas colectadas……. 11

Gráfico N° 02. Número de colonias aisladas……..11

Gráfico N° 03. Prevalencia de Enterobacteriáceas aisladas…… 12

Gráfico N° 04. Chi-cuadrado de la prevalencia de Enterobacteriáceas aisladas…….....13

LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo N° 01. Mercado Modelo Ciudad Iquitos. Vista externa (A) e interna (B)……..26

Anexo N° 02. Laboratorio de Investigación de la Facultad de Biología-UNAP……..27

Anexo N° 03. Imagen satelital del mercado Modelo Ciudad Iquitos. ……27

Anexo N° 04. Flujograma fotográfico de aislamiento e identificación de muestras obtenidas del mercado Modelo……28

Anexo N° 05. Flujograma de identificación bioquímica de las Enterobacteriáceas lactosa positiva. (Garrity *et al*. 2004)……29

Anexo N° 06. Flujograma de identificación bioquímica de las Enterobacteriáceas lactosa negativa. (Garrity *et al*. 2004)……..30

Anexo N° 07. Reactivos de la técnica de Gram. Bradshaw J., (1985)……31

Anexo N° 08. Fórmula y fundamento en medios de diferenciación bioquímica. Bradshaw J., (1985)……..33

Anexo N° 09. Ficha de Registro de la muestra colectada……38

RESUMEN

En este estudio, se determinó la presencia de Enterobacteriáceas en el estadío adulto de *Periplaneta americana* "cucaracha" capturadas en el mercado Modelo de la ciudad de Iquitos. Se colectaron un total de 68 "cucarachas", y luego cada una fue depositada en un frasco estéril y trasladadas vivas para su análisis respectivo; después del aislamiento, las colonias observadas fueron sometidas a pruebas de identificación bioquímica tales como: Prueba de la oxidasa, Utilización de la glucosa, lactosa y sacarosa (agar TSI), pruebas VP-RM, Indol, Hidrólisis de la úrea. La prevalencia de Enterobacteriáceas se determinó utilizando el método estadístico de distribución de frecuencias y la prueba no paramétrica de chi cuadrado para prueba de hipótesis.

De las 68 cucarachas analizadas fueron aisladas 118 colonias caracterizadas como lactosa positiva y lactosa negativa, representando el 71 y 29 % respectivamente de las muestras analizadas. Finalmente, se aislaron e identificaron 5 cepas bacterianas, categorizadas en 5 géneros, de las cuales un 25 % corresponde a Providencia, 8 % a Edwardsiella, 14% a Citrobacter, 31 % a Enterobacter y 21 % a Klebsiella.

I. INTRODUCCIÓN

La cucaracha es la especie más común de insecto, evidencias fósiles indican que existen en la tierra desde hace más de 300 millones de años. (Atkinson, *et al*. 1991); Salehzadeh, (1992); (Daly *et al.* 1998) y Cochran, (2001). Su tamaño varía considerablemente y es bastante cosmopolita; es un artrópodo transmisor de enfermedades, puede actuar como vector mecánico y como reservorio natural de microorganismos patógenos debido a su gran adaptabilidad, su capacidad reproductiva, a la cantidad de alimento y refugio que encuentra en las zonas urbanas. Varias especies de cucarachas se diseminan con gran facilidad y rápidamente, causando gran molestia e incomodidad en todos los niveles sociales. Su presencia en condominios, hospitales, clínicas, escuelas, restaurantes, supermercados y en muchos otros establecimientos comerciales y residenciales, es preocupante en vista de su enorme capacidad de proliferación y distribución de patógenos (Feizhaddad *et al*. 2012).

Se ha demostrado de manera experimental, que la cucaracha aloja y transmite alrededor de 100 especies de bacterias de las cuales, al menos 25 pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, la misma que es causante de gastroenteritis en el hombre y transporta gérmenes patógenos que pueden permanecer viables en su integumento, tubo digestivo y excremento durante días o semanas, Ramírez, (1989).

Existen dos razones principales por la que las cucarachas son consideradas como perjudiciales para la salud pública: la primera, es una fuente importante de alérgenos que causa asma y, en segundo lugar, es perjudicial para la salud, debido a su frecuencia muy cercana con materia fecal humana; sin embargo, los seres humanos estamos rodeados por una gran diversidad de microorganismos, de los cuales la mayoría de ellos son totalmente inofensivos e incluso beneficiosos y necesarios para nuestra existencia, (Bonnefoy *et al*. 2008). En la actualidad se conocen alrededor de 45 especies de microorganismos transmitidas por *Periplaneta americana* "cucaracha" mediante sus patas, cuerpo, heces, entre otros. Especies como *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*, agente causal de gastroenteritis y contaminación de alimentos y, agente causal de la tifoidea, respectivamente (Ponce *et al*. 2005).

Las especies bacterianas aisladas con mayor frecuencia en *Periplaneta americana,* según investigaciones recientes a nivel mundial, son los bacilos gram negativos, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, tales como: *Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Serratia sp*, *Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae,* etc. (Feizhaddad *et al*. 2012). En la Amazonía peruana aún no se ha contemplado el rol que desempeñan las cucarachas como agentes de transmisión de microorganismos patógenos y no patógenos; por tanto, el objetivo de este trabajo de investigación fue determinar la presencia de Enterobacteriáceas en partes externas del estadío adulto de *Periplaneta americana* "cucaracha" capturados en el mercado Modelo de Iquitos-2014.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Periplaneta americana "cucaracha", es un artrópodo cosmopolita y común que está íntimamente relacionado con seres humanos que viven en condiciones insalubres y saneamiento inadecuado (alcantarillados deficientes), están también presentes en zonas urbanas (casas, hospitales, tiendas, panaderías, mercados, etc.) (Bouamama *et al*. 2007).

Esta relación, la convierte en un reservorio natural y vector mecánico para albergar y diseminar un sin número de microorganismos patógenos causantes de morbilidad y mortalidad en la población humana, siendo un peligro potencial para la salud pública. Además, estos microorganismos son transportados en sus patas y cuerpo, de allí depositados en las comidas, utensilios, alimentos tales como: frutas y verduras, causando ciertas infecciones gastrointestinales en la población humana que acude a restaurantes, mercados, hospitales, etc. (Bonnefoy *et al*. 2008).

La cucaracha, es considerada un problema de salud pública, debido a su adaptación y facilidad para desplazarse de un lugar a otro por cañerías y alcantarillas, también a su capacidad de transmitir microorganismos patógenos. Por ello, es importante tener un control de dicha especie ya que puede contaminar alimentos, los cuales al ser ingeridos por los seres humanos eventualmente podrían inducir la aparición de enfermedades como disentería y diarrea, entre otras; Muñoz, (2005); (Feizhaddad *et al*. 2012).

A nivel mundial, investigaciones recientes realizadas en hospitales en Irán, mostraron que especies bacterianas frecuentemente aisladas fueron bacilos gram negativos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae tales como: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella sp., Serratia sp., Proteus sp*. , *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* etc. (Feizhaddad *et al*. 2012).

En estudios realizados en Francia, se aislaron 56 cepas de *Enterobacter cloacae,* 32 cepas de *Citrobacter freundii,* 33 cepas de *Klebsiella pneumoniae*, 28 cepas de *Klebsiella oxytoca,* 14 cepas de *Serratia marcescens* a partir de cucarachas de las especies: *Blattella germánica, Supella longipalpa y Blatta orientalis* (Rivault *et al*. 1993).

Por otro lado, en Brasil, se logró aislar e identificar 15 especies pertenecientes a la familia Enterobacteriacea a partir de *Periplaneta americana*; Las más frecuentes fueron: *Klebsiella pneumoniae* (17%); *Enterobacter aerogenes* (14%); *Serratia marcescens* (13%); *Hafnia alvei* (12%); y las menos frecuentes, *Enterobacter gergoviae*; *Enterobacter cloacae* (9%); y *Serratia sp.* (6%) (Prado *et al.* 2002).

Así mismo, estudios realizados en hospitales, establecimientos de manipulación de alimentos y viviendas humanas en Tailandia, fueron aisladas de la cutícula de cucarachas cincuenta especies de bacterias, encontrándose con mayor frecuencia *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Citrobacter freundii y Enterobacter cloacae* (Chaichanawongsaroj *et al.* 2004).

Otros estudios realizados en Nigeria, reportaron que, de 234 cucarachas de la especie *Diploptera punctata,* fueron aisladas especies tales como: *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Citrobacter freundii, Enterobacter cloacae, Salmonella sp, Pseudomonas aeruginosa, Serretia marcescens, S. aureus, S. feacalis, S. epidermidis, Aeromonas sp.* (Tatfeng *et al.* 2005).

En trabajos realizados en Marruecos, fueron reportadas bacterias Gram positivas y Gram negativas tales como: *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis*, especies de Streptococcus*, Escherichia coli, Enterobacter sp., Klebsiella sp., Serratia sp., Proteus vulgaris, Proteus sp., Shigella sp.,* y *Salmonella sp*, aisladas de superficies externas del cuerpo de cincuenta "cucarachas" pertenecientes a la especie *Periplaneta americana* (Lamiaa *et al*. 2007).

Por otro lado, en Iraq fueron aisladas bacterias de las especies: *E. coli* 100% en partes externas, 95% parte interna, en hospitales y del mismo modo el 83,8% partes externas y 72,7% en partes internas, en casas, seguido por *Streptococcus faecalis* 95% en partes externas y 62,5% en partes internas en los hospitales y 83,3% en partes externas y 66,6% en partes internas en las casas; todas ellas a partir de *Periplaneta americana* (Al-bayati *et al.* 2011).

Mientras que en Irán, se aislaron nueve especies de bacterias de importancia médica a partir de *Periplaneta americana*, tales bacterias fueron: *Escherichia coli*, 86,7% y *Proteus vulgaris*, el 73,3%, *Bacillus cereus*, 66,7%, *Streptococcus faecalis*, 60%,

Staphylococcus aureus, 60%, *Enterobacter cloacae*, 53,3%, *Shigella sp*., 33,3%; *Serratia sp*., 13,3% y *Staphylococcus epidermidis*, 6,7% (Feizhaddad *et al*. 2012).

Otros trabajos realizados en Irán, obtuvieron de setenta y tres "cucarachas" pertenecientes a *Periplaneta americana* el aislamiento de bacterias como: *Klebsiella sp*. (47.9%), *Pseudomonas sp*. (37%), *Escherichia coli* (30.1%), Staphylococcus sp. (24.6%), *Enterobacter sp.* (19.2%), *Streptococcus sp.* (15.1%), *Serratia sp.* (8.2%), *Bacillus sp*. (4.1%) y *Proteus sp*. (2.7%); Kassiri & Kazemi, (2012).

En Nigeria (Osogbo), consiguieron aislar a partir de heces y la superficie del cuerpo de 100 cucarachas, especies tales como: *Klebsiella aerogenes*, *Enteroccocus faecalis*, *E. coli*, Citrobacter sp. y *Serratia marcescens* (Adeleke *et al*. 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de estudio

Las muestras fueron colectadas en el mercado Modelo ubicado en el distrito de Iquitos, provincia de Maynas, departamento de Loreto, cuyas coordenadas geográficas son: Latitud sur: 3° 44´ 32.5 ´´ y Longitud oeste: 73° 14´ 27.5´´ (Anexo N° 01 y 03).

3.1.1. Lugar de análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas perteneciente a la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, ubicado en la calle Pevas 5ta cuadra; ubicado en el distrito de Iquitos perteneciente a la provincia de Maynas, departamento de Loreto (Anexo N° 02).

3.2. Métodos

3.2.1. Colecta de *Periplaneta americana* "cucaracha"

Se colectaron en forma aleatoria 68 cucarachas en un periodo de 5 meses, empleando trampas con cebos atrayentes; posteriormente, las mismas fueron depositadas cada una en frascos estériles, previamente codificados, para ser trasladadas al laboratorio.

Luego con ayuda de una pinza fueron transferidas a un Erlenmeyer de 125 ml, que contenía 20 ml de caldo peptonado que luego fue incubado a 37°C durante 24 horas para el enriquecimiento de la flora microbiana presente (Anexo N° 04).

3.2.2. Aislamiento de Enterobacteriáceas lactosa positiva y lactosa negativa

De las muestras incubadas a 37°C, se procedió a retirar el inóculo, y con una asada se cultivaron en placas que contenían Agar MacConkey, las cuales fueron incubadas a 37°C durante 24 horas.

Luego de las 24 horas se seleccionaron colonias que presentaron características de lactosa positiva y lactosa negativa, las cuales fueron cultivadas en agar tripticase de soya (TSA) a 37°C por 24 horas.

Posteriormente, las cepas aisladas fueron sometidos a la técnica de coloración de Gram; y, caracterizadas por su morfología se procedió a realizar la identificación bioquímica (Anexo N° 04).

3.2.3. Identificación bioquímica de Enterobacteriáceas

A partir del cultivo en agar tripticase de soya (TSA) se procedió a realizar las pruebas de identificación bioquímica como: prueba de Oxidasa, fermentación de azúcares en medio diferencial TSI, hidrólisis de la urea, descarboxilación de la lisina y ornitina; y, pruebas del IMVIC. Mediante estas pruebas bioquímicas se pudo determinar el género de las bacterias aisladas (Anexo N° 04, 05 y 06).

3.2.4. Prevalencia de Enterobacteriáceas

Correspondió a la proporción de microorganismos pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae presentes en *Periplaneta americana* "cucaracha"; determinadas por la prueba no paramétrica del chi cuadrado.

3.3. Procesamiento y análisis de datos

Los datos obtenidos fueron analizados en una base de datos, utilizando el software Office Microsoft Excel 2013, también se utilizaron los software estadísticos Past, Spss versión 20 y el generador de gráficos estadísticos Winstat.

IV. RESULTADOS

Para determinar la presencia de Enterobacteriáceas de tipo lactosa positiva y lactosa negativa, se colectaron un total de 68 individuos de *Periplaneta americana* "cucaracha" en el mercado Modelo de la ciudad de Iquitos, obteniendo los siguientes resultados:

En la Tabla Nº 01, se demuestra los porcentajes de cucarachas colectadas y colonias aisladas. De 68 cucarachas, 48 presentaron crecimiento característico de colonias lactosa positiva representando el 71 %. Asimismo, 20 cucarachas presentaron colonias de tipo lactosa negativa correspondiente al 29% de la muestra analizada (Gráfico Nº 01).

Tabla N° 01. Porcentaje de cucarachas colectadas y colonias aisladas.

ENTEROBACTERIACEAS	Nº INDIVIDUOS COLECTADOS	(%)	Nº de colonias	(%)
Lactosa positiva	48	71%	78	66%
Lactosa negativa	20	29%	40	34%
Total	68	100%	118	100%

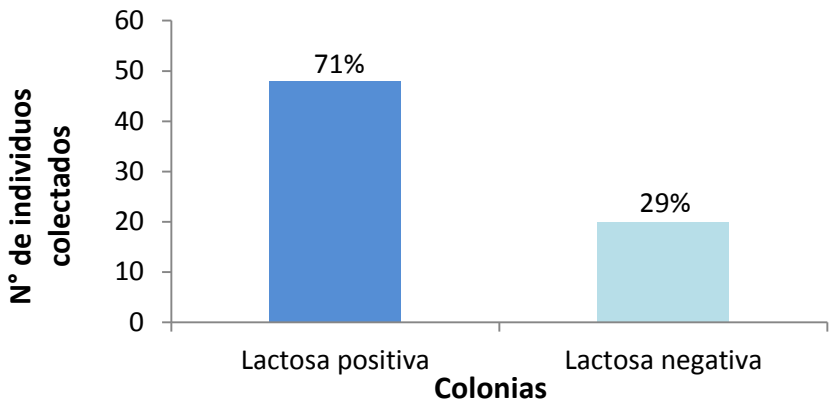


Gráfico N° 01. Porcentaje de cucarachas colectadas.

Por otro lado, de 48 cucarachas se aislaron un total de 78 colonias lactosa positiva representando al 66 % de la muestra aislada y de 20 cucarachas se aislaron 40 colonias lactosa negativa que representa al 34 % de la muestra aislada (Tabla Nº 01), (Gráfico Nº 02)

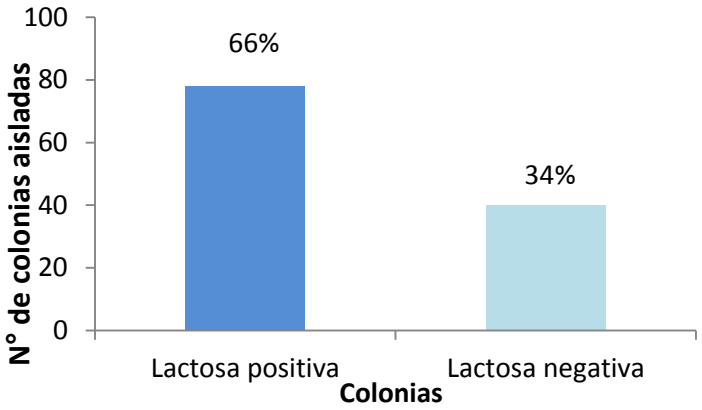


Gráfico N° 02. Número de colonias aisladas.

En la tabla N° 02, de las 68 cucarachas colectadas para el análisis se aisló un total de 118 colonias, de las cuales la bacteria lactosa positiva *Enterobacter* fue el género con

mayor frecuencia con el 31%; mientras que las bacteria lactosas negativas *Providencia* y *Edwardsiella,* representaron al 25% y 8% de frecuencia en las muestras aisladas siendo este último el género con menor aislamiento. (Gráfico Nº 03).

Tabla N° 02. Prevalencia de Enterobacteriáceas lactosa positiva y lactosa negativa aisladas de partes externas del cuerpo de *Periplaneta americana* "cucaracha".

GENERO BACTERIANO		ENTEROBACTERIACEAS	
		ni	%
LACTOSA NEGATIVA	*Providencia*	30	25%
	Edwardsiella	10	8%
LACTOSA POSITIVA	*Citrobacter*	17	14%
	Enterobacter	36	31%
	Klebsiella	25	21%
TOTAL		118	100%

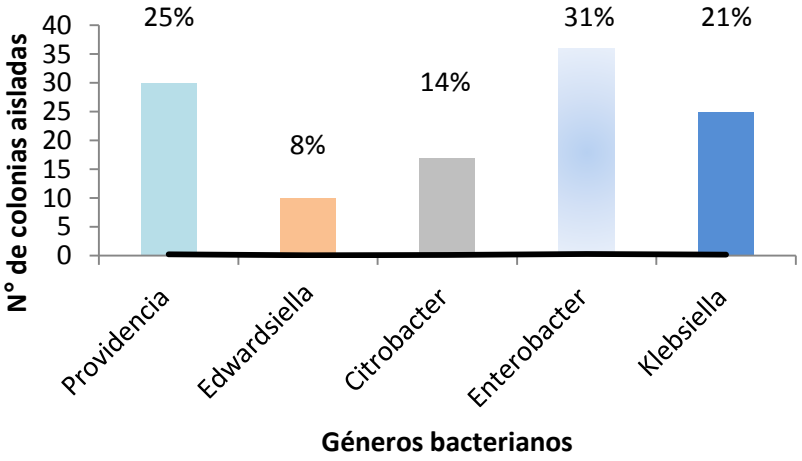


Gráfico N° 03. Prevalencia de Enterobacteriáceas aisladas.

Por otro lado, en la prueba no paramétrica de chi cuadrado se obtuvo los siguientes resultados, X2c: 2.84 mientras que el X2t: 23.89 por lo tanto el X2c<X2t; la cantidad de individuos capturados de cucaracha no es interdependiente con la cantidad de cepas identificadas en géneros, las variaciones son independientes.

Entonces, las cepas identificadas en géneros no son estadísticamente representativas en el total de cucarachas capturadas (Gráfico Nº 04).

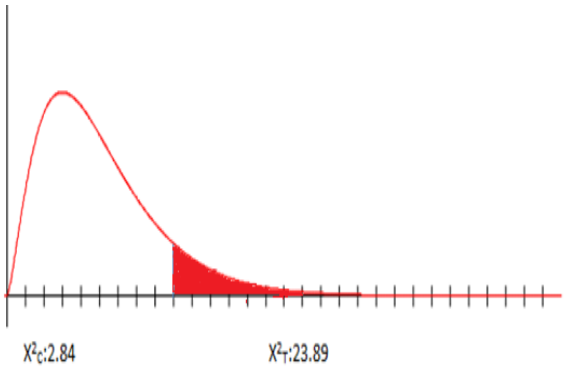


Gráfico N°04. Chi-cuadrado de la prevalencia de enterobacteriaceas aisladas.

V. DISCUSIÓN

En el Perú son muy pocos los trabajos relacionados a las bacterias que trasmite *Periplaneta americana*, a pesar de la importancia de estos insectos como transmisores de enfermedades gastrointestinales. Por tal razón, el Organismo Mundial de la Salud (OMS); considera a las cucarachas como un problema de salud pública por ser un vector mecánico en el transporte de muchos microorganismos como: Protozoarios, hongos, virus, helmintos e incluso bacterias; que son los causantes de muchas infecciones gastrointestinales a la población humana (Bonnefoy *et al*. 2008). Además, de la presencia de estas bacterias en las cucarachas, se suman dos factores primordiales: su hábitat urbano (alcantarillas, huecos, ranuras) y a su alimentación de materia en descomposición. A esto se suma, una inadecuada higiene del área, la presencia de basurales y desagües en malas condiciones, lo cual hace propicio para la reproducción de algunas bacterias causantes de enfermedades. Esto, concuerda con lo mencionado por (Al-bayati *et al*. 2011); (Pai *et al*. 2003) y (Pai *et al*. 2005) al indicar que las cucarachas se alimentan de la suciedad, de basura y están en contacto con heces humanas, pudiendo diseminar microorganismos en la comida, frutas y verduras; causando infecciones gastrointestinales a la población humana. Por otro lado; Muñoz, (2005) determinó la presencia de agentes patógenos en verduras puestas a la venta en los mercados de la ciudad de Lima, debido a la omisión de adecuadas técnicas de

higiene personal, mala manipulación del vendedor, además de desagües en malas condiciones y a la presencia de vectores como cucarachas, moscas y ratas.

Es por ello, que el mercado Modelo presenta los ecotipos (infraestructura inadecuada, acumulación de basuras, hacinamiento de personas, etc.) para la proliferación de *Periplaneta americana* y además, a esto se suma las condiciones ambientales como la humedad y la temperatura para su adecuada reproducción. Todo ello, hace que la cucaracha sea un vector de enfermedades gastrointestinales para las personas que concurren a dicho establecimiento, convirtiéndose en foco infeccioso. Esto es corroborado por Ramírez, (1989); Zorzenon, (2002) y (Prado *et al*. 2002), que indican que la cucaracha, debido a las condiciones ambientales tales como la humedad y la elevada temperatura y a su gran adaptabilidad, capacidad reproductiva y refugio que encuentra en zonas urbanas va causando molestia e incomodidad en la población al transportar estos agentes patógenos causante de enfermedades gastrointestinales. Por otro lado (Bouamama *et al*. 2007); (Feizhaddad *et al*. 2012), indican que la diseminación de muchos microorganismos (agentes patógenos), se atribuye a factores socioeconómicos tales como el tipo de población, el urbanismo y el nivel social, todos ellos relacionados a las condiciones insalubres, acumulación de basura y al hacinamiento de personas; transformándose en un problema para la salud. Estos agentes patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales, están relacionadas a especies bacterianas tales como los bacilos gram negativos lactosa positiva y lactosa

negativa, pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae y; que concuerda con nuestro estudio al aislar agentes patógenos pertenecientes a esta familia, caracterizadas por ser lactosa positiva (66 %) y lactosa negativa (34 %) (Tabla N° 01). Resultados que concuerdan con investigaciones realizadas por: (Al-bayati *et al*. 2011); Kassiri & Kazemi (2012), (Adeleke *et al*. 2012); que afirman, la presencia de estos agentes patógenos en zonas urbanas (mercados, hospitales, restaurantes, etc.) pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, aisladas a partir de cucarachas. También, en otros estudios realizados en Tailandia por (Chaichanawongsaroj *et al*. 2004), indican el aislamiento de 292 colonias bacterianas siendo los más frecuentes los bacilos gram negativos tales como: *Escherichia coli* (4.8%), *Klebsiella pneumoniae* (10.3%), *Enterobacter cloacae* (8.9%), etc. pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. Identificados gracias a su crecimiento en sustancias alimenticias artificiales para demostrar alguna propiedad bioquímica o metabólica tales como: Prueba de la oxidasa, reducción de nitratos a nitritos, Fermentación de azucares, Prueba de Voges-Proskauer y del rojo de metilo, Hidrólisis de la urea, descarboxilación de la lisina, etc.; lo cual concuerda con nuestro trabajo que nos permitió identificar las 118 colonias en 5 géneros bacterianos tales como Providencia (25%), Edwardsiella (8%), Citrobacter (14%), Enterobacter (31%) y Klebsiella (21%), presentes en la cucaracha (Tabla N° 02), tal como lo indica (Prado *et al*. 2002) en estudios realizados en Brasil, dónde las bacterias gram negativas lactosa positiva y lactosa negativa aisladas de las cucarachas, fueron sometidas a pruebas de

identificación bioquímica, y también lo demuestra (Garrity *et al*. 2004) en su Flujograma de identificación bacteriana pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae.

Estudios realizados por (Rivault *et al*. 1993); (Adeleke *et al*. 2012), encontraron que *Enterobacter sp*. (50 %), fue la bacteria aislada con mayor frecuencia , resultados que concuerdan con lo registrado en nuestro estudio (*Enterobacter* (31 %)), sin embargo investigadores como (Prado *et al*. 2002), reportan a *Klebsiella pneumoniae* (17 %) *y Enterobacter aerogenes* (14 %) como los más frecuentes; a diferencia de trabajos realizados por (Feizhaddad *et al*. 2012) que encontraron a *Escherichia coli* (86.7%) como el más frecuente, probablemente se deba a la posible relación directa (contacto y/o alimentación con heces humanas) objeto de la contaminación, no coincidiendo en nuestro estudio, porque no encontramos *Escherichia coli,* posiblemente debido a que al momento de la captura, las cucarachas no estaban en contacto directo con heces humanas, siendo estas capturadas desplazándose en las mesas, sillas, dentro de los armarios, en el mercado; donde mayormente estaban alimentándose de restos de comidas, frutas, verduras, animales y fluidos (sangre de animales).

En cuanto a la presencia de *Providencia* (25%) y *Edwardsiella* (8%), nuestros resultados no concuerdan con los trabajos realizados por (Rivault *et al*. 1993); (Prado *et al*. 2002); (Chaichanawongsaroj *et al*. 2004); (Tatfeng *et al*. 2005); (Lamiaa *et al*. 2007); (Al-bayati *et al*. 2011); (Feizhaddad *et al.* (2012); Kassiri & Kazemi, (2012); (Adeleke *et al*. 2012), que no reportaron a estas bacterias en su investigación.

Los géneros encontrados en nuestro estudio tales como: *Enterobacter* (31%) y *Klebsiela* (21%), coinciden con algunos investigadores a nivel mundial como: (Rivault *et al*. 1993); (Prado *et al*. 2002); (Tatfeng *et al*. 2005) y Kassiri & Kazemi, (2012), que concuerdan en el aislamiento e identificación de estas bacterias causantes de problemas gastrointestinales; por lo tanto se presume que en el mercado modelo, las cucarachas pueden contaminar mesas, sillas, ollas, platos, frutas, verduras y alimentos preparados, que se encuentran en contacto o que llegan a rozar con las cucarachas, tal como lo menciona Muñoz, (2005) que determinó la presencia de agentes patógenos en verduras puestas a la venta en los mercados de la ciudad de Lima, debido a la existencia de vectores como cucarachas, y otros factores socioeconómicos. Además, nuestro estudio y su resultado determinaron la identificación y prevalencia de estos microorganismos en partes externas de la cucaracha. Por consiguiente, en estudios como este, es de suma importancia hacer un seguimiento, basado en normas de saneamiento básico a *Periplaneta americana* "cucaracha", por el rol que cumple como vector mecánico y diseminador de agentes patógenos, posibles causantes de enfermedades gastrointestinales en la población que acude a comprar en el mercado Modelo.

VI. CONCLUSIONES

- Las pruebas bioquímicas empleadas en este estudio ayudan a identificar hasta género las Enterobacteriáceas.

- Se determinó la presencia de bacterias en partes externas de la cucaracha tales como: *Providencia, Edwardsiella, Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella*.

- El presente estudio no reporta a *Escherichia coli*.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar la identificación molecular hasta especie para brindar mejor resultado taxonómico.

- Determinar el grado de contaminación externa e interna y la prevalencia de cucarachas por sexo y estadios.

- Mejorar programas y estrategias que garanticen un manejo adecuado en las políticas de saneamiento básico, optimizando las condiciones elementales de salubridad: alcantarillado y educación sanitaria, para disminuir la población de cucarachas; y, por consiguiente la diseminación y aparición de enfermedades en la población.

- Intensificar los planes de vigilancia sobre este vector utilizando productos químicos, garantizando un seguimiento y posterior control poblacional que ayuden a minimizar los problemas de enfermedades en la colectividad humana.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adeleke, M., Akatah, H., Hassan, A., Adebimpe, W. 2012. Microbial load and multiple drug resistance of pathogenic bacteria isolated from feaces and body surfaces of cockroaches in an urban area of southwestern Nigeria. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences: 1 (6) 1448-1461 pp.

Al-bayati, N.Y., Al-Ubaidi, A.Sh., Al-Ubaidi, I.K. 2011. Risks Associated with Cockroach *Periplaneta Americana* as a Transmitter of Pathogen Agents. Diyala Journal of Medicine. Vol. 1, Number 1: 91-97 pp.

Atkinson, T. H., Koehler, P, G., and Patterson, R. S., 1991. Catalog and atlas of the cockroaches (Dictyoptera) of North America north of Mexico. Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.78, 1-86 pp.

Bonnefoy, X., Kampen, H., Sweeney, K. 2008. Public Health Significance of Urban Pests. World Health Organization. Copenhagen, Denmark. ISBN 978-92-890-7188-8 pp.

Bouamama Lamiaa, Lebbadi Mariam and Aarab Ahmed. 2007. Bacteriological analysis of *Periplaneta americana* L. (Dictyoptera; Blattidae) and *Musca*

domestica L. (Diptera; Muscidae) in ten districts of Tangier, Morocco. African Journal of Biotechnology Vol. 6(17), 2038-2042 pp.

Bradshaw J. 1985. Microbiología de laboratorio. 4ª Reimpresión. Edit. El manual moderno, S.A. de C.V. México, D.F. 235 pp.

Chaichanawongsaroj, N.; Vanichayatanarak, K.; Pipatkullachal, TH.; Polrojpanya, M. & Somkiatcharoen, S. 2004. Isolation of gram –nagative bacteria from cockroaches trapped from urban environment.South. Asian J.Trop. Med. Pub. Heal. 35(3):681-684 pp.

Cochran, D. J., 2001. Cockroache, biology distribution and control. Tehran University Publication, First Edition, 144 pp.

Daly, H .V., Doyen , J. T. and P urcell III, A. H., 1998. Introduction to insect biology and diversity. 2nd Ed. Oxford Univ. Press,London. 680pp.

Feizhaddad, Mohammad-Hossein., Kassiri, Hamid., Sepand, Mohammad-Reza., and Ghasemi, Fereshteh.. 2012. Bacteriological Survey of American

Cockroaches in Hospitals. Middle-East Journal of Scientific Research 12 (7): 985-989 pp.

Garrity G. M., Bell J. A., Lilburn T. G., 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes bergey`s manual of systematic bacteriolology. Second edition. Release 5.0. 399 pp.

Kassiri H, Kazemi S. 2012. Cockroaches [*Periplaneta americana* (L.), Dictyoptera; Blattidae] as Carriers of Bacterial Pathogens, Khorram- shahr County, Iran. Jundishapur J Microbiol. 5(1):320-322 pp.

Lamiaa B., Lebbadi M., Ahmed A. 2007. Bacteriological analysis of *Periplaneta americana* L. (Dictyoptera; Blattidae) and *Musca domestica* L. (Diptera; Muscidae) in ten districts of Tangier, Morocco. Afr. J. Biotechnol. 6(17): 2038-2042 pp.

Muñoz J. S.M. 2005. Frecuencia de enterobacterias en verduras frescas de consumo crudo expendidas en cuatro mercados de Lima Metropolitana. Tesis para optar el título profesional de médico veterinario. Lima-Perú.

Murray R. S. y Larry J. S. 2005. Estadística. 4ta edición. Mc Graw-Hill. México, D.F.

Pai HH, Chen WC, Peng CF (2003). Isolation of *Nontuberculous mycobacteria* from nosocomial cockroaches. J. Hosp. Infect. 53: 224-228.

Pai HH, Chen WC, Peng CF (2005). Isolation of bacteria with antibiotic resistance from household cockroaches (*Periplaneta Americana* and *Blattella germanica*). Acta Trop. 93(3): 259-265.

Ponce G., Cantú P., Flores A., Badii M., Barragán A., Zapata R. Fernández I. 2005. Cucarachas: biología e importancia en salud pública. RESPYN. Revista Salud Pública y Nutrición. Vol 6 No. 3. 12 pp.

Prado M. A., Pimenta F. C., Hayashid M., Souza P. R., Pereira M. S. e Gir E. 2002. Enterobactérias isoladas de baratas (*Periplaneta americana*) capturadas em um hospital brasileiro. Rev Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health 11(2). 93-98 pp.

Ramirez J., 1989. La cucaracha como vector de agentes patógenos. Bol of Saint Panam. 107(1). 1989.

Rivault C, Cloarec A, Leguyader. 1993. Bacterial load of cockroaches in relation to urban environment. Epidemiol. Infect (110). 110: 317-325 pp.

Salehzadeh, A., 1992. An investigation on insects and determination of heir sensitivity to Faykam and Lindan's pesticides in Hamadan. The Journal of Scientific and research affair of Hamadan University of Medical Sciences, Second year, No. 2. 32-36 pp.

Tatfeng, M.U., Usuanlele, A., Orukpe, A.K., Digban, M., Okodua, F., Turay, A. 2005. Mechanical transmission of pathogenic organisms: the role of cockroaches. J Vect Borne Dis 42, December 2005 129–134 pp.

Zorzenon, F. J. 2002. Noções sobre as principais pragas urbanas. Biológico, São Paulo, v.64, n.2, 231-234 pp.

IX. ANEXO

Anexo N° 01. Mercado Modelo Ciudad Iquitos. Vista externa (A) e interna (B)

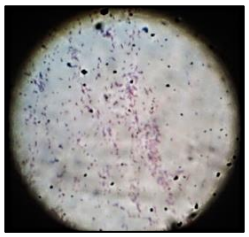
Anexo N° 02. Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas-UNAP.

Anexo N° 03. Imagen satelital de la ubicación del mercado Modelo Ciudad Iquitos.

Anexo N° 04. Flujograma fotográfico de aislamiento e identificación de muestras obtenidas del Mercado modelo.

Obtención de muestras del mercado

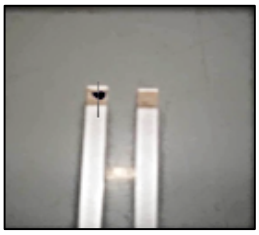
Caldo peptonado (20 ml) Incubar a 37 ºC por 24 horas



Agar Mac Conkey Incubar a 37 ºC por 24 h luego será incubada a 37°C durante 24 horas

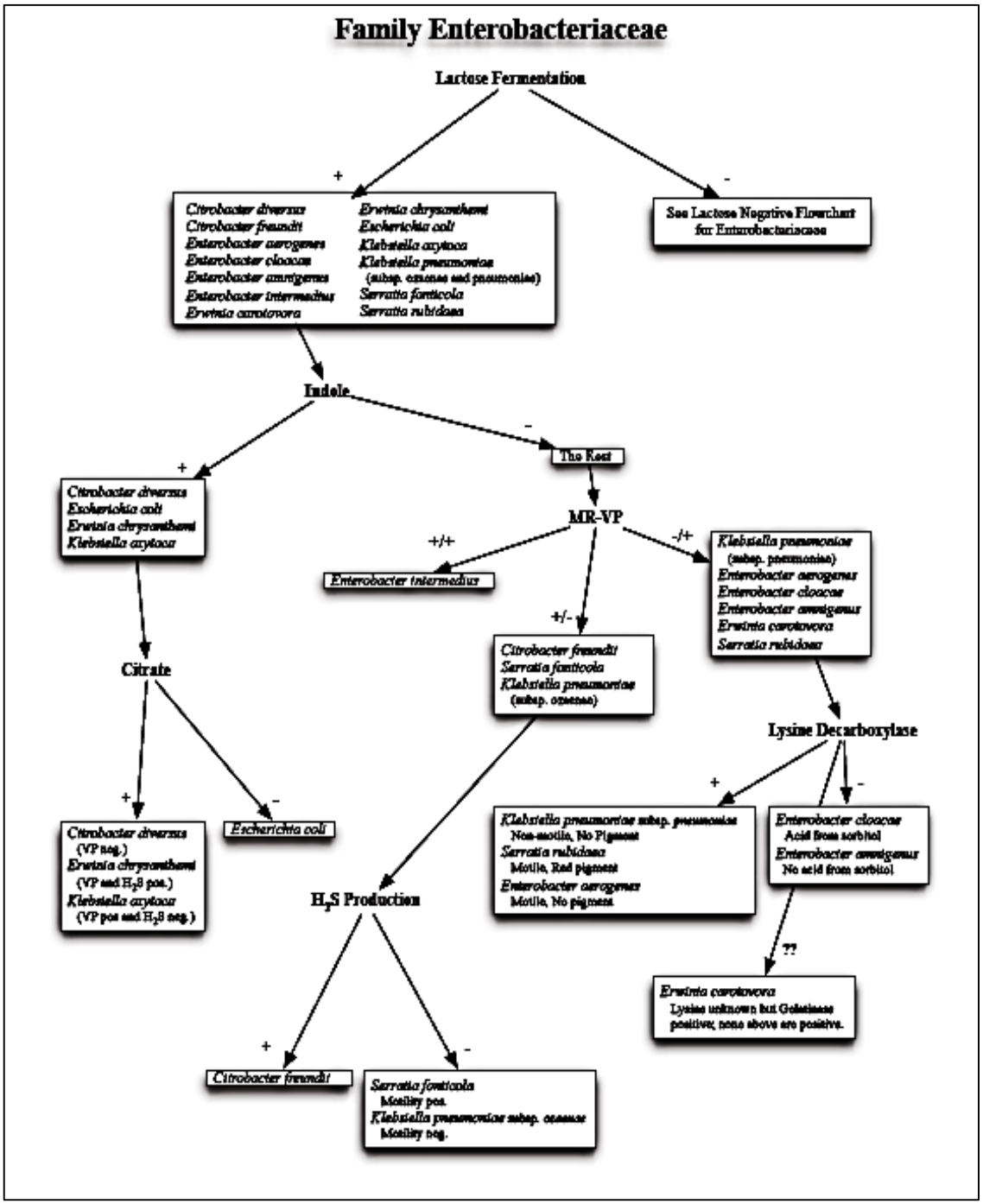
Agar TSA Incubar a 37 ºC por 24 h

Técnica de Gram

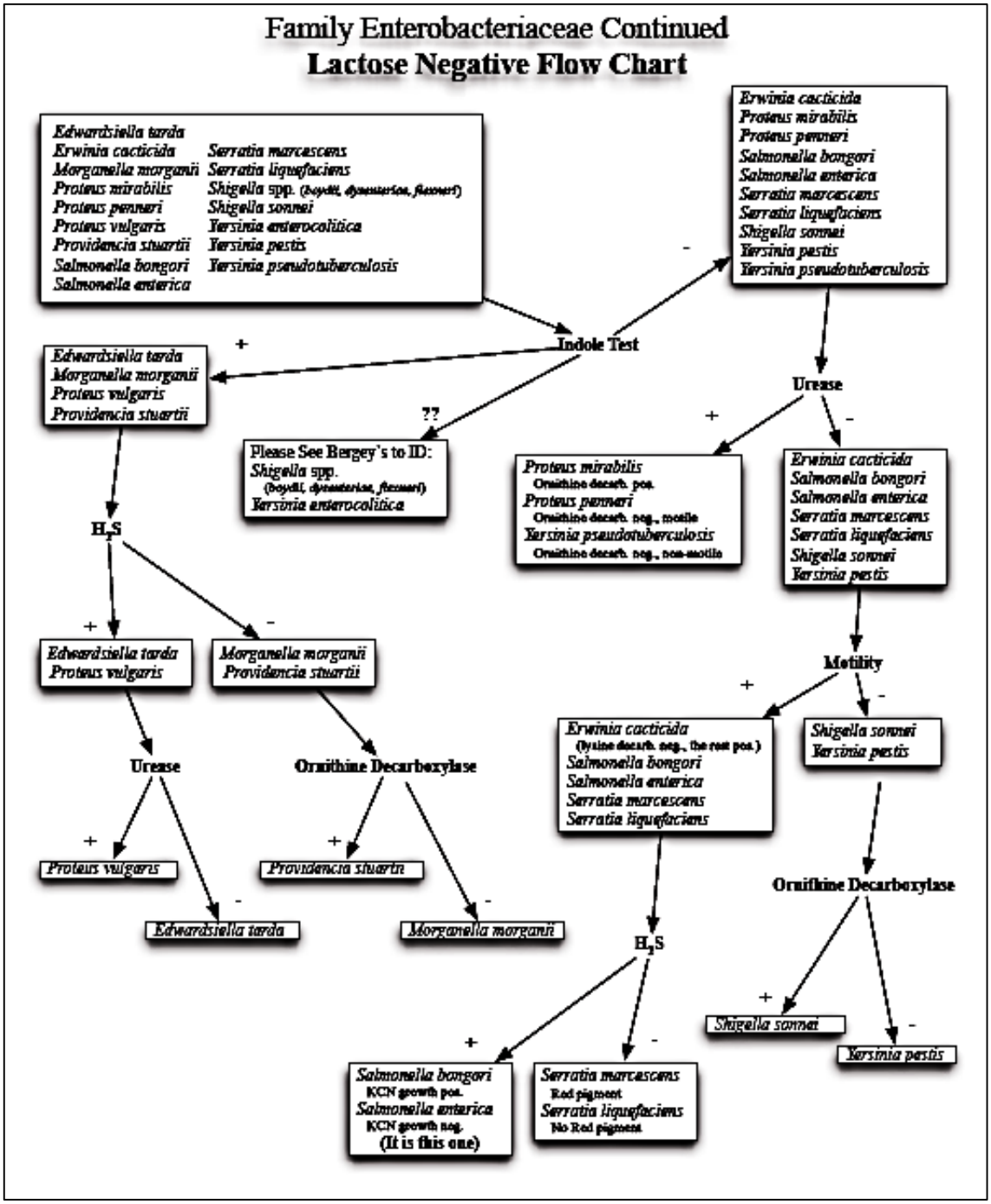


Pruebas Bioquímicas

Anexo N° 05. Flujograma de identificación bioquímica de las Enterobacteriáceas lactosa positiva. (Garrity *et al*. 2004).



Anexo N° 06. Flujograma de identificación bioquímica de las Enterobacteriáceas lactosa negativa. (Garrity *et al*. 2004).



Anexo N° 07. Reactivos de la técnica de Gram. Bradshaw J., (1985).

A. Colorante cristal violeta para 100 ml.

Fórmula:

Cristal violeta	2.0 gr.
Etanol al 95%	20 ml.
Oxalato de amonio	0.8 gr.
Agua destilada	80 ml.

Preparación:

1.- Disolver el cristal violeta en etanol

2.- Disolver el oxalato en agua

3.- Mezclar las dos soluciones

B. Solución de lugol para 120 ml.

Fórmula

Yoduro de potasio	10.0 gr.
Agua destilada	20.0 ml.
Yodo metálico	5.0 gr.

Etanol	100.0 ml.

Preparación:

1.- Disolver el yoduro de potasio en el agua

2.- Agregar el yodo metálico y disolver

3. Aforar a 100 ml con etanol

C. Solución de alcohol acetona para 300 ml.

Fórmula

Acetona	100 ml.
Etanol al 95%	200 ml.

D. Colorante safranina para 100 ml.

Fórmula

Safranina	0.5 gr.
Agua destilada	100.0 ml.

Preparación

Disolver la safranina en aproximadamente 20 ml de agua, después vaciar a 100 ml con más agua.

Anexo N° 08. Fórmula y fundamento de medios de diferenciación bioquímica (Bradshaw J., 1985).

A. Prueba de la citocromo oxidasa

Fundamento

Los citocromos son hemoproteínas que contienen fierro y actúan como el último eslabón de la cadena respiratoria, transfiriendo electrones (hidrógeno) al oxígeno, con formación de agua. El sistema citocromo oxidasa se encuentra en los organismos aerobios o anaerobios facultativos, de modo que la prueba de oxidasa es importante para identificar a aquellos organismos que carecen de la enzima o son anaerobios obligados. La prueba es muy útil para el conocimiento de las colonias sospechosas de ser enterobacteriaceas (todas negativas) y para la identificación de colonias que se presume sean especies de Pseudomonas o Neisseria (positivas). Esta prueba ocupa el diclororhidrato de p-fenilendiamina, que actúa como aceptor final de electrones, sustituyendo al oxígeno, la p-fenilendiamina es incolora en estado reducido, pero en presencia de citocromo oxidasa y oxígeno atmosférico se oxida formando azul de indofenol.

B. Agar triple azúcar hierro (TSI) para 1000 ml.

Fórmula

Extracto de carne	3.0 gr.
Extracto de levadura	3.0 gr.
Peptona de caseína	15.0 gr.
Peptona de carne	15.0 gr.
Lactosa	10.0 gr.
D-Glucosa	1.0 gr.
Sacarosa	10.0 gr.
Citrato férrico amoniacal	0.5 gr.
NaCL	5.0 gr.
Tiosulfato de sodio	0.5 gr.
Rojo de fenol	0.024 gr.
Agar agar	12.0 gr.
H_2O	1000 ml.

Fundamento

La degradación de azúcar se comprueba por el cambio de color rojo-naranja al amarillo, y la alcalinización por cambio al rojo oscuro. El tiosulfato se reduce a sulfuro de hidrógeno (gas) que reacciona con la sal de fierro, dando un precipitado negro de sulfuro de fierro. La degradación de la glucosa produce cambio sólo en la zona columnar, ya que por su baja concentración y la escasa cantidad de ácidos que se produce en el pico de flauta, hace que ésta se evapore; pero en cambio se mantiene los ácidos producidos por degradación de lactosa y sacarosa. La formación de grietas o cavidades, es por formación de gas (CO_2), en el proceso de degradación de los azúcares.

C. Caldo glucosado (VP-RM) para 1000 ml.

Fórmula

Peptona	7.0 gr.
Fosfato dipotásico	5.0 gr.
Glucosa	5.0 gr.
H_2O	1000 ml.

Fundamento

Este medio líquido buferado, contiene peptona y glucosa, sirve para evidenciar la capacidad bacteriana de formar compuestos denominados acetil-metil-carbinol (acetoína), en diacetilo intermediario en el metabolismo de la glucosa. Por acción del KOH al 40 % y el oxígeno atmosférico, la acetoína se convierte en diacetilo el α - naftol actúa como catalizador para revelar un complejo de color rojo.

D. Caldo peptonado (INDOL) para 1000 ml.

Fórmula

Peptona	10.0 gr.
H_2O	1000 ml.

E. Caldo Urea para 1000 ml.

Fórmula

Estracto de levadura	0.1 gr.
Dihidrógeno fosfato potásico	9.1 gr.
Hidrógeno fosfato disódico	9.5 gr.
Urea	20.0 gr.
Rojo de fenol	00.1 gr

H_2O 1000 ml.

Fundamento

La urea es una diamida del ácido carbónico y esta es fácilmente hidrolizada con la liberación de amoníaco y dióxido de carbono. La enzima ureasa que posee un microorganismo puede hidrolizar a la urea que está presente en el medio de cultivo de acuerdo con la siguiente reacción: El amoníaco reaccionan en solución para formar carbonato de amonio, produciéndose una alcalinización y un aumento del pH del medio.

Anexo N° 09. Ficha de Registro de la muestra colectada.

Nº de muestreos	Nº individuos de *Periplaneta americana*	Nº de colonias aisladas	Lactosa (+)	Lactosa (-)
01	4	7	4	3
02	4	7	5	2
03	5	9	7	2
04	4	8	4	4
05	5	7	5	2
06	4	9	6	3
07	4	8	5	3
08	5	7	5	2
09	4	6	4	2
10	5	8	6	2
11	5	9	6	3
12	4	8	5	3
13	5	9	5	4
14	6	10	7	3
15	4	6	4	2
Total	68	118	78	40