

PRESENCIA DE *Salmonella* sp. EN CUCARACHA AMERICANA *Periplaneta americana* L. (BLATTODEA: BLATTIDAE) EN TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

✉ Sarai Monserrat Cueto-Medina¹, Antonio Castillo-Martínez¹, Sergio Hernández-Rodríguez¹, Miguel Ángel Gallegos-Robles² Francisco Javier Sánchez-Ramos¹, Aldo Iván Ortega-Morales.

¹Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro -Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a santa Fe S/N, Torreón, Coahuila, México. C. P. 27059.

²Facultad de Agricultura y Zootecnia-UJED Km. 35 Carretera Gómez Palacio, Tlahualilo. Domicilio Conocido, Ej. Venecia, Gómez Palacio, Durango, México. C. P. 35170. Tel: 01 (871) 7118918.

✉ Correo: sary_cueto@hotmail.com.

RESUMEN. Algunas especies de cucarachas pueden ser reservorios y transmisores mecánicos de hongos, helmintos, protozoarios, además de bacterias como *Salmonella* sp. El propósito de esta investigación fue determinar la presencia de la bacteria *Salmonella* sp. en el tracto digestivo de la cucaracha americana (*Periplaneta americana* L.). Se colectaron 100 cucarachas en los sistemas de alcantarillado y a los alrededores de restaurantes del área urbana de Torreón, Coahuila, México. Las cucarachas fueron diseccionadas para obtener el tracto digestivo, a partir del cual se extrajo ADN bacterial con la técnica CTAB y se sometió a la PCR para amplificar el gen *invA* del género *Salmonella*. Los resultados mostraron que la bacteria *Salmonella* sp. está presente de manera natural en el tracto digestivo de la cucaracha americana *P. americana*.

Palabras clave: *Salmonella*, detección, cucaracha americana, *Periplaneta americana*.

Presence of *Salmonella* sp. in american cockroach *Periplaneta americana* L. (Blattodea: Blattidae) in Torreón, Coahuila, Mexico

ABSTRACT. Some cockroaches species are reservoirs and mechanical vectors of fungi, helminths, protozoans, as well as *Salmonella* bacteria. The main objective was to determine the presence of *Salmonella* bacteria in the digestive tract of the American cockroach (*Periplaneta americana* L.). 100 cockroaches were collected in sewer systems within and around of restaurants of the urban area of Torreón, Coahuila, Mexico. Cockroaches were dissected to obtain the digestive tract, bacterial DNA was extracted by the CTAB technique and subjected to PCR to amplify the *invA* gene of *Salmonella* genus. Our results showed the *Salmonella* sp. bacteria is naturally present in the digestive tract of American cockroach *P. americana*.

Key words: *Salmonella*, detection, american cockroache, *P. Americana*.

INTRODUCCIÓN

Las cucarachas son insectos del orden Blattodea, el cual incluye 4622 especies descritas a nivel mundial, de las cuales entre 10 a 15 especies son de importancia económica (Beccaloni, 2007; Beccaloni y Eggleton 2011). La cucaracha americana (*Periplaneta americana* L.) es una especie ampliamente distribuida en la zona urbana de Torreón, Coahuila (Hernández *et al.* 2013); se localiza frecuentemente en depósitos de agua, el sistema de alcantarillado, estructuras de desagüe y áreas perimetrales (Ponce *et al.* 2005).

Las cucarachas sinantrópicas actúan como portadoras de microorganismos como las bacterias (*E. coli* y *Salmonella sp.*), hongos, helmintos, protozoarios y virus (Kassiri y Kazemi, 2012); estos microorganismos pueden transmitirse de manera mecánica o por medio de arrastre, aunque pocos reportes señalan la importancia de las cucarachas en el ciclo de transmisión directa de patógenos a humanos (Fathpour *et al.* 2003).

El objetivo principal de este trabajo fue detectar y comprobar la presencia de *Salmonella sp.* dentro del tracto digestivo de cucarachas *Periplaneta americana* L. colectadas en registros sanitarios y periferia de restaurantes en el área urbana de Torreón, Coahuila, México.

MATERIALES Y MÉTODO

Ubicación del área de estudio. La colecta de especímenes se realizó en el municipio de Torreón (25° 32' 40"N, 103° 26' 30" W, 1140 m.s.n.m.), Coahuila, México. El desarrollo de éste trabajo se realizó durante el periodo comprendido entre los meses de junio y noviembre del 2012.

Recolección y disección de especímenes. Se recolectaron de manera directa 100 cucarachas *P. americana* en los sistemas de alcantarillado y en la periferia de los restaurantes ubicados en el área urbana de Torreón, Coahuila, México. Los ejemplares se depositaron en el Laboratorio de Parasitología de la UAAAN-UL, donde se extrajeron y maceraron los tractos digestivos de las cucarachas; posteriormente se formó un pellet en tubos eppendorf de 1.5 ml y se almacenaron a -20 °C.

Extracción de ADN bacteriano A partir de los pellets se realizó la extracción de ADN bacterial siguiendo el método CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) (Doyle y Doyle, 1987). El ADN bacterial obtenido se resuspendió en 20 µl de buffer TE 1X pH 8 y se almacenó a -20 °C.

Reacciones de PCR. Para la detección de *Salmonella sp.* se usaron iniciadores específicos para amplificar el gen *invA*. Las reacciones de PCR contenían 25 pmoles de cada uno de los iniciadores (Cuadro 1), dNTP's a una concentración de 2.5 mM (Invitrogen), 1.5 U de Taq DNA polimerasa (Invitrogen), 2.5 µl de buffer 10X (200 mM Tris-HCl pH 8.4), 500 mM de KCl, 10-200 ng de ADN templado y Agua Mili-Q para completar un volumen de 25 µl. Para amplificar el gen *invA* se utilizó el protocolo descrito por Rahn *et al.* (1992) utilizando un termociclador Tech NE TC-512 (Barlo World Scientific, USA) con el siguiente programa térmico: 1 ciclo a 95 °C durante 1 minuto, seguido de 35 ciclos conformados por una desnaturalización (95 °C / 30 segundos), alineación de primers (58 °C / 30 seg) y una extensión (72 °C / 30 seg), agregando una extensión final a 72 °C durante 10 min. Los productos de PCR, el control positivo (*S. enteritidis*) y el marcador de peso molecular, fueron visualizado en gel de agarosa al 1.5% teñidos con Gel Red y la imagen del producto amplificado fue capturada en un fotodocumentador WiseDoc WGD-20 (DAIHAN Scientific Co. Ltd. Korea). Para el gen *invA* se utilizó un marcador hyperladder 100-pb (Bioline, USA) para determinar el tamaño de los productos de PCR.

Cuadro 1. Primers utilizados para la amplificación de PCR del gen *invA* para *Salmonella* sp.

Gen	Primers	Autor
<i>invA</i>	5' GTGAAATTATCGCCACGTTCCGGGCAA 3' 5' TCATCCACCGTCAAAGGAACC 3'	Rahn <i>et al.</i> (1992)

RESULTADOS

De las 100 cucarachas *Periplaneta americana* colectadas en restaurantes, el 3% (3/100) de los especímenes fueron portadoras de *Salmonella* sp.

La presencia de *Salmonella* en el tracto digestivo de las cucarachas fue determinada mediante PCR amplificando el gen *invA*. La figura 1 muestra los productos de PCR del gen *invA* obtenidos a partir del ADN bacterial obtenido del tracto digestivo de cucarachas colectadas en restaurantes y portadoras de *Salmonella* sp. Los iniciadores utilizados en este estudio mostraron una alta especificidad y sensibilidad, amplificando unicamente los productos esperados. Los resultados de la PCR del presente estudio (Figura 1) señalan que los cebadores se pueden utilizar para la detección de *Salmonella* sp. parasitando el tracto digestivo de cucarachas americanas.

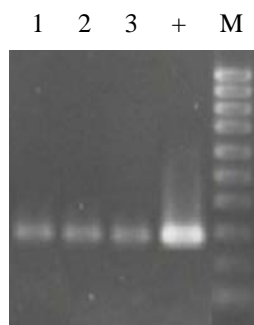


Figura 1. Productos de PCR del gen *invA* de *Salmonella* sp. a partir de ADN obtenido del tracto digestivo de *P. americana*. Líneas 1-3 = cucarachas colectadas en restaurantes. + = control positivo *S. enteritidis*. M = marcador molecular 100 pb. El producto de PCR observado es de 287 pb.

DISCUSIÓN

En el área urbana de Torreón, Coahuila, México la especie de cucaracha más abundante es *P. americana* (Hernández *et al.* 2013), es una especie peridomestica, omnivora, que para satisfacer sus necesidades de agua, alimento y humedad tiene como hábitat el sistema de alcantarillado y drenaje de las ciudades (Ponce *et al.* 2005). Se les ha asociado con los desechos y falta de higiene (Tilahun *et al.* 2012). Las cucarachas son capaces de portar, acarrear y diseminar con su parte externa algunas bacterias, hongos, helmintos y virus de importancia médica (Tatfeng *et al.* 2005). Entre las bacterias que porta *P. americana* se encuentra la bacteria *Salmonella* sp., la cual ha sido aislada de reptiles, aves e incluso otros insectos (Althouse *et al.* 2003). De los 100 tractos digestivos de cucarachas colectadas en este estudio, tres (3/100) fueron positivos para *Salmonella* sp.; estos resultados son consistentes con los reportados por Devi y Murray (1991),

Jalil *et al.* (2012) y Tilahun *et al.* (2005); quienes reportaron 1, 3 y 4 tractos digestivos de cucarachas *P. americana* positivas a *Salmonella* sp. respectivamente.

La baja colonización microbiana en el aparato digestivo de los insectos puede relacionarse al habitat inestable que presentan (Engel y Moran, 2013); la inestabilidad del hábitat dentro del tracto digestivo de las cucarachas no es impedimento para que exista colonización por microorganismos, tal como fue reportado por Ramírez (1989) quien reportó la presencia de *Salmonella oranienburg* viable en heces de *P. americana* por más de 140 días, a diferencia de *S. enteritidis* que se multiplicó pocas veces en la hemolinfa de esta especie y permaneció viable de 4 a 6 días.

Es importante considerar la presencia de cucarachas en ambientes potencialmente patogénicos como los registros de drenaje sanitarios de los restaurantes, pero el bajo porcentaje de *Salmonella* sp encontrado en los tractos digestivos de las cucarachas puede deberse al desecho de sanitizantes que pueden alterar la microbiota interna de los blatodeos (Akinjogunla *et al.* 2012), de esta manera las cepas sensibles no sobreviven, mientras que las bacterias que crean resistencia adquieren la capacidad de sobrevivir dentro del tracto digestivo de las cucarachas.

Los primers (Cuadro 1) utilizados en este estudio demostraron alta especificidad y sensibilidad en las reacciones de PCR al amplificar el gen de *invA* de *Salmonella* sp. La ausencia de la secuencia *invA* de *Salmonella* en bacterias invasivas (*Yersinia* sp., *Shigella* sp.) y enteropatógenas (*E. coli*) que también tienen la capacidad de invadir las células epiteliales, demuestra la especificidad particular y la utilidad de este par de cebadores para la detección de *Salmonella* sp. (Galán y Curtis, 1999).

AGRADECIMIENTOS

Al personal del Departamento de Parasitología de la UAAAN-UL, por facilitar el espacio para las disecciones de los especímenes, al M. C. Uriel González-Salas de la FAZ-UJED por apoyar en el diagnóstico de *Salmonella*.

LITERATURA CITADA

- Akinjogunla, O. J., Odeyemi, A. T. y E. P. Udoinyang. 2012. Cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*): reservoirs of multidrug resistant (MDR) bacteria in Uyo, Akwa Ibom State. *Scientific Journal of Biological Sciences*, 1(2):19-30.
- Althouse, C. S., Patterson, P. C. y R. Isaacson. 2003. Type 1 fimbriae of *Salmonella enteric* serovar *Typhimurium* bind to enterocytes and contribute to colonization of swine in vivo. *Infection and immunity*, 71(11):6446-6452.
- Beccaloni, G. W. y P. Eggleton. 2011. Order Blattodea Brunner von Wattenwyl, 1882. In: Zhang, Z.-Q. (Ed.). *Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness*. *Zootaxa*, 3148:199-200.
- Beccaloni, G. W. 2007. *Blattodea Species File Online*. Version 1.2/4.0. World Wide Web electronic publication. <<http://Blattodea.Species File.org>> [ultimo acceso 20 de Julio

- 2013] (A regularly updated world catalogue of extant Blattodea excluding the Termitoidea).
- Devi, S. J. N. y C. J. Murray. 1991. Cockroaches (*Blatta* and *Periplaneta* species) as reservoirs of drug-resistant salmonellas. *Epidemiol. Infect.*, 107:357-361.
- Doyle, J. J. y Doyle, J. L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull.*, 19:11-15.
- Engel, P. y N. A. Moran. 2013. The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *EMS Microbiol Rev.*, 37(5):699-735.
- Fathpour, H., Emtiazi, G. y E. Ghasemi. 2003. Cockroaches as Reservoirs and Vectors of Drug Resistant *Salmonella* spp. *Iranian Biomedical Journal*, 7(1):35-38.
- Galán, J. E. y R. Curtis. 1991. Distribution of the *invA*, -B, -C, and -D genes of *Salmonella typhimurium* among other *Salmonella* serovars: *invA* mutants of *Salmonella typhi* are deficient for entry into mammalian cells. *Infection and Immunity*, 59(9):2901-2908.
- Hernández-Rodríguez, S., Ortega-Morales, A.I., Valdés-Perezgasga, Ma. T., Sánchez-Ramos, F.J., López-Hernández, J. y J. Santillán-Santana. 2013. Nuevos registros de cucarachas urbanas en Torreón, Coahuila, México (Insecta: Blattodea). *Acta Zoológica Mexicana*, 29(2):428-430.
- Jalil, N., Keyhani, A., Moosa-Kasem, S. H., Mahdi, M., Monireh, M. y B. Atefeh. 2012. Cockroaches bacterial infections in wards of hospitals, Hamedan City, west of Iran. *Asian Pac. J. Trop. Dis.*, 2(5):381-384.
- Kassiri, H. y S. Kazemi. 2012. Cockroaches [*Periplaneta americana* (L.), Dictyoptera; Blattidae] as carriers of bacterial pathogens, Khorramshahr, Iran. *Jundishapur Journal Microbiol*, 5(1):320-322.
- Ponce, G., Cantú, P. C., Flores, A., Badii, M., Barragán, A., Zapata, R. y I. Fernández. 2005. Cucarachas: Biología e importancia en salud pública. *RESPYN*, 6(3):1-6.
- Rahn, K., De Grandis, S. A., Clarke, R. C., McEwen, S. A., Galán, J. E., Ginocchio, C., Curtiss, R., y C. L., Gyles. (1992). La amplificación de un *invA* secuencia del gen de *Salmonella typhimurium* por reacción en cadena de la polimerasa como método específico de detección de *Salmonella*. *Mol Cell Probes*, 6:271-279.
- Ramírez, J. 1989. La cucaracha como vector de agentes patógenos. *Bol of Sanit Panam*, 107(12):41-53.
- Tatfeng, Y., Usuanlele, M., Orukpe, A., Digban, A., Okodua, M., Oviasogie, F. y A. Turay. 2005. Mechanical transmission of pathogenic organisms: the role of cockroaches. *Journal Vector Borne Dis.*, 42(4):130-131.
- Tilahun, B., Worku, B., Tachbele, E., Terefe, S., Kloos, H. y W. Legesse. 2012. High load of multi-drug resistant nosocomial neonatal pathogens carried by cockroaches in a neonatal intensive care unit at Tikur Anbessa specialized hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 1:1-12.