

Identificación de microorganismos patógenos, aislados de moscas de importancia forense, utilizando pruebas bioquímicas, en el noreste de México

Alejandra González Bonilla¹, Laura Yanneth Ramírez Quintanilla¹, María Ludivina De Los Reyes Martínez¹, Ignacio Hernández Rodríguez¹, Israel Estrada Camacho¹ ✉

¹Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa-Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas, calle 16 y lago de Chapala, col. Aztlán, Cd. Reynosa, Tamaulipas, México.

✉ iecamacho@docentes.uat.edu.mx

Datos del artículo

Cita: González Bonilla Alejandra, Ramírez Quintanilla Laura Yanneth, DeLosReyesMartínezMaríaLudivina, Hernández Rodríguez Ignacio, Estrada Camacho Israel. 2023. Identificación de microorganismos patógenos, aislados de moscas de importancia forense, utilizando pruebas bioquímicas, en el noreste de México. Revista Digital de Ciencia Forense. 2(2) Especial: 16-22 pp.

Editor: Carlos Pedraza Lara.

Recibido: 8 octubre 2022.

Aceptado: 22 febrero 2023.

Publicado: 24 abril 2023.

Resumen

Las moscas comunes y de importancia forense viven de manera constante en contacto con el hombre, a estos dípteros podemos observarles en nuestra propia casa; sin embargo, pueden representar un riesgo para la salud, debido a los lugares que visitan. En el presente trabajo, se identificaron microorganismos patógenos en moscas de interés en el área forense a través de pruebas bioquímicas convencionales. Se colocaron 280 g de carne de cerdo como cebo para la captura de moscas en estadio adulto, el aislamiento se realizó sobre tres agares distintos, (MacConckey, Müller Hinton y Agar Nutritivo) previamente preparados, haciendo que las moscas caminaran sobre placas Petri. Una vez desarrolladas las colonias se seleccionaron y se inocularon en los medios LIA, SIM, KIA, MIO y O/F, cultivándolos durante 24 horas a temperaturas de 35° a 37°C. Se usaron 78 especímenes del orden Díptera y se identificaron cinco especies y dos géneros de bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae. El conocimiento de la carga microbiana que logran portar y aportar al hombre, constituye parte de su relevancia en el área forense cuando han tenido contacto directo con materia putrefacta.

Palabras clave: entomología, dípteros, microorganismos patógenos, bioquímica.

Abstract

The common and forensically important flies live constantly in contact with man, as evident from their presence in our own home; however, they can represent a risk to our health, due to the places they visit. In the present work, pathogenic microorganisms were identified in flies of forensic relevance through conventional biochemical tests. 280 g of pork meat were placed as bait for the capture of adult flies, the isolation was carried out on three different agars (MacConckey, Müller Hinton and Nutrient Agar) previously prepared, making the flies walk on Petri dishes. Once developed, the colonies were selected and inoculated in LIA, SIM, KIA, MIO and O/F media and let grow for 24 hours at 35° to 37°C. A total of 78 specimens of Diptera were included, while five species and two genera of bacteria belonging to the family Enterobacteriaceae, were identified. The knowledge of the microbial load that flies carry and transmit to man, contributes to their relevance in the forensic area when they have had direct contact with putrefied matter.

Keywords: entomology, diptera, pathogenic microorganisms, biochemical.

Introducción

De acuerdo con Hall (1), la Entomología Forense es la interacción que existe entre el estudio de los insectos y el sistema judicial, dándose cuando los propios insectos o sus nichos ecológicos puedan ser de utilidad como evidencia. Mientras que, la entomología médica es una de las disciplinas que estudia a los insectos y artrópodos que afectan directa o indirectamente la salud humana, por lo que involucra aspectos de la salud pública (2).

Cuando una persona muere, su cuerpo se involucra en cambios y transformaciones fisicoquímicas, que conlleva a la presencia de comunidades de organismos necrófagos, necrófilos, omnívoros y accidentales que se asocian a los procesos de descomposición del cadáver (3). De la fauna que se puede encontrar en un cuerpo en descomposición, los artrópodos suelen ser los más abundantes, siendo el orden Diptera el grupo mejor representado, ya que destaca por su gran diversidad con más de 86, 000 especies conocidas a nivel mundial, de las cuales 16,000 de estas especies están presentes en América del Norte. Las moscas suelen ser encontradas en cualquier hábitat terrestre, incluso se ha reportado su recolección sobre el mar, a millas de distancia de la tierra (4).

Los dípteros son insectos que presentan metamorfosis holometábola que incluye cuatro fases: huevo, larva, pupa y adulto. La mayoría de los dípteros carroñeros se alimentan y procesan la materia animal en descomposición presente en el medio, siendo las familias mejor representadas Calliphoridae, Sarcophagidae y Muscidae (4).

Los dípteros, al igual que los insectos y otros organismos, son capaces de sobrevivir dentro de ciertos límites marcados por factores ambientales como la temperatura, la humedad relativa o el fotoperiodo. Dentro de cierto rango, estos factores influyen a su vez sobre actividades tales como la alimentación, la dispersión, la puesta o el desarrollo. De todos los factores ambientales, el que ejerce un efecto mayor sobre el desarrollo de los insectos es la temperatura, debido principalmente a su importante incidencia sobre los procesos bioquímicos, al ser organismos poiquiloterms, es decir, “de sangre fría” (5).

La presencia de moscas en zonas próximas a núcleos humanos representa un riesgo importante en el ámbito sanitario y ambiental. Las enfermedades que destacan por transmisión de moscas a las personas y animales domésticos son las intestinales e infecciones oculares, entre otras (6). Así las moscas pueden fungir como vectores, entendiéndose como vector aquellos organismos vivos que pueden transmitir patógenos infecciosos entre personas o de animales a personas.

Por lo anterior, en el presente estudio se investigó la presencia de microorganismos patógenos en moscas de interés forense, las cuales han tenido contacto directo con cebos en putrefacción.

Material y Método

Lugar de estudio

La presente investigación fue realizada en el campo experimental de la Universidad Autónoma de Tamaulipas-Unidad Aztlán, en las coordenadas geográficas (26°3'45.49" N y 98°19'17.84" O) en la Cd. de Reynosa, Tamaulipas, México, en el verano de 2019.

Sustrato

Se utilizaron 280 g de músculo de carne de cerdo, expuesta al ambiente sobre un recipiente de poliestireno. El cebo fue dispuesto en jaulas de metal, con la finalidad de evitar cualquier perturbación por agentes externos.

Colecta y determinación de dípteros

Entre el tercer y cuarto día de exposición se recolectaron moscas, excluyendo a los individuos que se encontraron muertos al momento de la recolección. Se colocaron inmediatamente en tubos Eppendorf de 5 ml de manera grupal para ser trasladados a contenedores. Usando tubos cónicos cortados en su extremo para su transporte, cada mosca fue colocada individualmente en una caja Petri. Una vez ahí, se le dejó caminar y explorar el medio por un tiempo de entre 5 a 7 minutos. Concluida la auto siembra, las moscas fueron reincorporadas a los contenedores, los ejemplares fueron conservados en alcohol etílico al 70% para su posterior identificación con base en las claves taxonómicas de Withworth y Buenaventura (7,8).

Análisis Microbiológico

Para el cultivo bacteriológico se emplearon tres medios de cultivo MacConkey, Müller Hinton y Nutritivo, se vaciaron en placas Petri previamente esterilizadas.

Los medios de cultivo auto sembrados por las moscas capturadas fueron incubados aeróbicamente en incubadora Riossa a una temperatura de 35° a 37°C por 24 horas. Las colonias desarrolladas fueron identificadas siguiendo la metodología bacteriológica convencional (9).

Análisis Bioquímico

Después de haber seleccionado las colonias en los agares, se procedió a la inoculación en pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias presentes.

Agar LIA. Se tomó una asada de la colonia seleccionada en la que se sembró y se inoculó por picadura y estría en superficie.

Agar SIM. Se tomó una asada de la colonia seleccionada y se inoculó por picadura en punción vertical. Los cultivos que indican movilidad bacteriana tienen una apariencia turbia, aquellos sin turbidez del medio indican que la bacteria es inmóvil.

Agar KIA, Agar MIO y Agar O/F. Una vez seleccionada la colonia, se tomó una asada y se inoculó por picadura en punción vertical y estriado en superficie

Análisis estadístico

Se utilizó el programa computacional Microsoft Excel® versión 2010, para realizar un análisis descriptivo de presencia de microorganismos.

Resultados y discusión

En este estudio, se identificaron un total de 78 especímenes del orden Díptera, pertenecientes a dos géneros, con una abundancia relativa de 0.551 para *Sarcophaga* y 0.448 para *Chrysomya* (Tabla 1).

Tabla 1. Abundancia relativa para géneros *Sarcophaga* y *Chrysomya*.

Género	Abundancia absoluta	Abundancia relativa
<i>Sarcophaga</i>	43	0.551
<i>Chrysomya</i>	35	0.448

Análisis Bioquímico

Medio LIA. Se obtuvieron dos tubos con ausencia de desaminación, negativos para ácido sulfhídrico (H₂S) y gas ausente, revelando bacterias pertenecientes al género *Shigella*. Un tercer tubo presentó desaminación, pero con ausencia de gas y ácido sulfhídrico (H₂S) confirmando la presencia de *Proteus rettgeri*.

Medio SIM. Los tubos indicaron la presencia de tiosulfato sódico, dos de ellos positivos para movilidad y ácido sulfhídrico (H₂S) con presencia de gas, a partir de estas características, se identificó a *Proteus vulgaris*, *Citrobacter* sp. y *Escherichia coli* por la ausencia de ácido sulfhídrico (H₂S) y ausencia de movilidad.

Medio KIA. A través de este medio, se observó la producción de ácido de lactosa y glucosa en todos los tubos y con presencia de gas, de los cuales dos no produjeron ácido sulfhídrico (H₂S) tratándose de *Escherichia coli* para ambos tubos. Mientras tanto el tercer tubo presentó producción de ácido sulfhídrico (H₂S), característica de *Proteus* sp.

Medio MIO. Los resultados indicaron la presencia de tiosulfato sódico, ácido sulfhídrico (H₂S) negativo, ornitina y ausencia o presencia de movilidad. Se identificaron tres géneros bacterianos *Shigella*, *Klebsiella* (específicamente *K. pneumoniae*) y *Enterobacter*.

Medio O/F. En todos los tubos hubo reacción, revelando la fermentación y oxidación de bacterias, además

Prevalencia de microorganismos patógenos

Se identificaron cinco especies y dos géneros de bacterias pertenecientes a la familia Enterobacteriaceae, de las moscas de interés forense. Las formas en que estos dípteros pueden transmitir bacterias patógenas son: a) a través de su superficie corporal; b) por regurgitación de comida contaminada y c) por defecación de patógenos, esta última siendo la más importante vía, a causa del efecto protector que le brinda el interior de su organismo al patógeno presente (10).

De las especies de enterobacterias identificadas; la mayoría corresponden a *Escherichia coli* (31%) y *Shigella* spp. (23%), *Proteus vulgaris* (15%), y en menor número, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* sp., y *Providencia rettgeri* (8% para cada género) y finalmente *Enterobacter aerogenes* (7%). Estos resultados son similares a los reportados en un estudio en Uturo, Nigeria, en que se reporta la presencia de *Shigella* en un (100%) y *Salmonella* (61.7%) (11), lo cual sugiere que estas bacterias pueden ser dispersadas a través de dípteros, convirtiéndolos en vector de enfermedades.

Las moscas de importancia forense cumplen un papel como agentes de transmisión de microorganismos patógenos, aunque es complejo comprobar la transmisión a partir de cuerpos en descomposición (12). Sin embargo, en la presente investigación fue posible demostrar que las moscas de interés forense después de que se posan en un cebo en descomposición portan una carga microbiana importante.

Por otro lado, un estudio realizado en Lima y Callao, Perú (6), también se confirma el aislamiento de patógenos en *Musca* doméstica, donde encontraron la presencia de cuatro tipos de enteropatógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, y *Yersinia enterocolitica*. Dicho estudio demostró el papel de las moscas como un vector mecánico con gran potencial en la transmisión de bacterias enteropatógenas. En México, de *Musca domestica*, existen otros grupos de dípteros que son consideradas como un vector potencial de enfermedades (13). Lo anterior fue corroborado en este estudio, ya que fue posible aislar enterobacterias en dos géneros diferentes de dípteros de interés forense (*Sarcophaga* y *Chrysomya*) (Tabla. 2).

Tabla 2. Clasificación con base a las claves taxonómicas Whitworth (7) y Buenaventura et al., (8).

Orden	Familia	Género
	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga</i>
Diptera	Calliphoridae	<i>Chrysomya</i>

Conclusiones

El presente estudio logró demostrar la presencia de enterobacterias como *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter*, *Enterobacter aerogenes* y *Providencia rettger* en moscas de interés forense.

Se determinó que *Escherichia coli*, y *Shigella* spp., fueron las especies de enterobacterias más frecuentes en los dípteros de interés forense, con un 31% y 23 % respectivamente del total de la muestra.

Finalmente, se observó que los dípteros de importancia forense aportan una carga microbiológica importante, especialmente cuando han tenido contacto directo con materia putrefacta.

Bibliografía

1. Hall, R. D. (2008). Forensic Entomology. En J. L. Capinera, Encyclopedia of Entomology (2nd ed., págs. 1518-1519). Florida.
2. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud (2017) Lineamientos para la vigilancia entomológica. Secretaría de Salud.
3. Smith K. A manual of forensic entomology. The trustees of the British Museum (Natural history) and Cornell University Press. First Published. New York. 1986. 205p.
4. Byrd, J. H., & Castner, J. L. (2010). Insects of forensic importance. En J. H. Byrd, & J. L. Castner, Forensic Entomology: the utility of arthropods in legal investigations (Vol. 1). CRC Press Taylor & Francis Group.
5. Wagner, T. L., Wu, H.-I., Sharpe, P. J., Schoolfield, R. M., & Coulson, R. N. (1984). Modeling insect development rates: a literature review and application of a biophysical model. *Annals of the Entomological Society of America*, 208-225
6. Béjar, V., Chumpitaz, J., Pareja, E., Valencia, E., Huamán, A., Sevilla, C., . . . Saez, G. (2006). *Musca domestica* como vector mecánico de bacterias enteropatógenas en mercados y basurales. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 23 (1), 39-43.
7. Whitworth, T. (2006). Key and species of blow flies (Díptera Calliphoridae) of America North of Mexico. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 108, 689-725.
8. Buenaventura R., E., Camacho C., G., García García, A., & Wolff E., M. (2009). Sarcophagidae (Diptera) de importancia forense en Colombia: claves taxonómicas, notas sobre su biología y distribución. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(2), 189-196.
9. Koneman, E. W., Janda, W. M., Allen, S. D., & Winn, W. C. (2001). *Diagnóstico Microbiológico* (5ta ed.). Panamericana.
10. Sasaki, T., Kobayashi, M., & Agui, N. (01 de Noviembre de 2000). Epidemiological Potential of Excretion and Regurgitation by *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in the Dissemination of *Escherichia coli* O157: H7 to Food. *Journal of Medical Entomology*, 37(6), 945-949.
11. Ugbogu, O. C., Nwachukwu, N. C., & Ogbuagu, U. N. (02 de Junio de 2006). Isolation of *Salmonella* and *Shigella* species from house flies (*Musca domestica* L.) in Uтуру, Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 5(11), 1090-1091.
12. Rahuma N, Ghenghesh KS, Ben Aissa R, Elamaari A. Carriage by the housefly (*Musca domestica*) of multiple-antibiotic-resistant bacteria that are potentially pathogenic to humans, in hospital and other urban environments in Misurata, Libya. *Ann Trop Med Parasitol*. 2005 Dec;99(8):795-802. doi: 10.1179/136485905X65134. PMID: 16297293.
13. Manrique-Saide, P. C., & Delfin-González, H. (1997). Importancia de las moscas como vectores potenciales de enfermedades diarreicas en humanos. *Revista Biomédica*, 8(3), 163-170.