



DETERMINACIÓN DE LA FLORA BACTERIANA ASOCIADA CON LA DESCOMPOSICIÓN DEL HÍGADO DE CERDO Y POSIBLE ATRACCIÓN DE LAS MOSCAS DEL GUSANO BARRENADOR DEL GANADO (*Cochliomyia hominivorax*) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

Iván Gustavo Luna¹, Humberto Cornejo, Zenaida Vergara, Velkis Staff y Yazmina Concepción

¹Programa Centroamericano de Maestría en Entomología, Universidad de Panamá.

RESUMEN

Este estudio se llevó a cabo con el propósito de determinar la comunidad de bacterias asociada con la descomposición de este atrayente. Para cumplir este propósito tres puestos con hígados fueron puestos en el Parque Natural Metropolitano desde noviembre de 1999 hasta abril de 2000. Una muestra diaria de la superficie de cada hígado fue tomada y llevada al laboratorio donde se identificaron las especies de bacterias encontradas. Como resultado se obtuvieron 31 especies de bacterias, 22 en la estación lluviosa y todas en la seca. Ellas fueron agrupadas de acuerdo a su presencia en ambas temporadas del año en tres grupos, uno con las bacterias presentes sólo en la época seca, otro con mayor número de réplicas positivas en la estación seca y el último con mayor número de réplicas en la lluviosa.

PALABRAS CLAVES

Ecofisiología, Flora bacteriana, Atracción, Diptera *Cochliomyia hominivorax*.

ABSTRACT

The goal of this work is determining the bacterial community of bacteria to the decomposition of the liver in the field. To achieve this goal three sites with rotten liver in the Parque Nacional Metropolitano, Panamá City, Panamá, were set from November 1999 to December 2000. A bacterial sample on each liver surface was taken daily. We obtained 31 bacterium species, 22 at the rainy season and all of them at the dry season. They were grouped according to the season in three groups of bacterium: one of them only presents at the dry season, the other one with the greater number at the dry season, and the last one with the greater number of bacterium at

the rainy season. We discuss the environmental implications of each group and its importance in the attraction of the screwworm *Cochliomyia hominivorax*.

KEYWORDS

Ecophysiology, bacterial flora, rotten liver, attraction, Diptera, *Cichliomya hominivorax*.

INTRODUCCIÓN

Cochliomyia hominivorax es una seria plaga de mamíferos de sangre caliente, produciendo severos daños económicos a la ganadería. Sus larvas producen miasis y son parásitos obligatorios de las heridas de estos animales (Holt et al., 1979). Por consiguiente, las hembras estarán en búsqueda constante de un hospedero adecuado, o sea un mamífero con herida.

Existe poca información acerca de cómo las hembras de *C. hominivorax* localizan su hospedero (Thomas, 1993). Se ha determinado que el olfato es importante en esta actividad (DeVaney, 1970; Hammack, 1990). Asimismo, los olores que proceden de las heridas infestadas son más atractivas (Hammack, et al., 1989; Holt et al., 1979). Esto sugiere la presencia de sustancias que atraen a las hembras hacia los sitios potenciales de oviposición (Adams et al., 1979; Hammack & Holt, 1983; Hammack et al., 1989; Hammack, 1990; Thomas, 1993).

Borgstrom (1938) fue de los primeros en implicar las bacterias en la atracción de *C. hominivorax*. DeVaney et al. (1973) reportaron por primera vez que la sangre inoculada con bacterias atraía mayor cantidad de moscas que la no contaminada. Eddy et al. (1975) observaron que un grupo de bacterias provoca la atracción de las moscas gusanera a larga distancia (*Proteus*); mientras que otras promueven el contacto con el medio de oviposición (*Bacillus*). De igual modo, Hammack et al. (1987) demostraron la atracción *C. hominivorax* hacia vapores preparados de cultivos de *Providencia rettgeri*. Asimismo, Hammack et al. (1989) implican a las bacterias en la atracción de la sangre de bovino seca. En tanto que, Hammack (1990) sugiere que ante la escasez de fuente proteica en la naturaleza, las bacterias ayudan en el proceso de ubicación de éstas.

Uno de los métodos de colecta de empleados para *C. hominivorax* es el hígado en descomposición, el cual es muy eficaz en las áreas tropicales (Parker & Welch, 1991a, b). Sin embargo, toda la información que se tiene acerca de la flora bacteriana asociada con la atracción de estas moscas procede de estudios hechos en heridas, sangre o medios de cría de estas moscas. Sin embargo, no se tiene información de este tipo en el hígado en descomposición (DeVaney et al., 1973). Estos autores sospechan que la atracción de este cebo hacia estas mosca se fundamenta en la presencia de bacterias. Por lo tanto, en el presente estudio se tiene como propósito determinar la flora bacteriana que se encuentra asociada con la descomposición del hígado y que pudiera causar la atracción de las hembras de *C. hominivorax*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Esta investigación se realizó en el Parque Natural Metropolitano (PNM) en la ciudad de Panamá durante dos períodos; la estación lluviosa comprendida entre el 27 de noviembre de 1998 al 7 de enero de 1999 y la época seca entre el 1 de marzo y el 18 de abril de 1999. Como cebo se empleó hígado de cerdo procedente del Mercado Público. Tres puestos fueron ubicados en el borde del Parque: el sitio 1 dentro del bosque detrás de la caseta de vigilancia, el 2 en el borde del bosque detrás de las antiguas instalaciones de COPFA y el 3 en el borde del bosque al norte de este edificio. Cada puesto era vigilado por una persona, la cual rotaba diariamente en el sentido de las manecillas del reloj. Durante cada época se utilizaron tres hígados diferentes por un período de catorce días continuos para cada uno, los cuales, fueron considerados como bloque experimental.

Metodología de campo

Cada hígado nuevo se dividió en tres pedazos, uno para cada puesto (réplica); los cuales se colocaron en un plato en el suelo y se expusieron por un período de dos horas comprendidas entre las 10:45 a.m. hasta la 1:00 pm. Cada 30 min se tomaron medidas de la temperatura ambiental (Digi-Thermo). Luego de la última lectura del día, se procedía a tomar la muestra bacteriológica sobre la superficie del hígado con un hisopo humedecido con Caldo Nutritivo. Posteriormente, ésta se colocaba dentro de un tubo de ensayo que contenía 10 ml del Caldo Nutritivo. También, se tomó una muestra bacteriológica de cada pedazo en el momento en que se compraba el hígado en el Mercado Público con el fin de obtener un registro de la flora bacteriana inicial procedente del mercado.

Metodología de Laboratorio

Las muestras de bacterias fueron transportadas al laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Escuela de Biología de la Universidad de Panamá donde se dejaba por un espacio de 24 horas a temperatura ambiente (27°C). Luego de pasado este período, las muestras se sembraron por 24 h en Agar Nutritivo, Eosina Azul de Metileno (E.M.B.), Agar Manitol Salado y Agar Sangre por 18 h. Se seleccionaron las diferentes colonias aisladas en cada medio y se les realizó la tinción de Gram (Murray, et al., 1994) hasta obtener colonias puras Gram positivas y Gram negativas. Estas cepas fueron sembradas en tubos inclinados con Agar Nutritivo. La identificación de las especies de bacterias Gram negativas se realizó mediante el sistema de identificación aerobio de API 20E (bioMérieux Vitek, Inc.). Las bacterias Gram positivas se separaron basándose en su morfología en bacilos y cocos, siendo identificadas hasta especie por medio de las pruebas de hidrólisis de almidón, crecimiento en Agar con una concentración de 7% y 5% de NaCl, producción de catalasa, motilidad, hidrólisis de gelatina, hidrólisis de caseína, utilización de azúcares (manitol, xilosa y arabinosa), prueba de Voges-Proskauer, reducción de NO₃-NO₂ y producción de acetoina (Holt et al., 1994). Dentro de los cocos los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus*, se identificaron mediante las pruebas de citocromo oxidasa, producción de catalasa, motilidad, fermentación de azúcares y resistencia a Bacitracina (Holt et al., 1994). Para la identificación de las especies del género *Staphylococcus* se emplearon las pruebas de coagulasa, producción de acetoina, citocromo oxidasa, Agar con (NH₄)₂SO₄, utilización de los azúcares, crecimiento en Agar con una concentración de 7% y 5% de NaCl, reducción de NO₃ y medio con tioglicolato (Holt et al., 1994).

RESULTADOS

Comportamiento General de las bacterias totales

El análisis del número de especies de bacterias presentes por puestos reveló homogeneidad ($F_{2,249,5\%} = 2.38$; $p = 0.095$); por lo que, ellos podían sumarse entre sí. Asimismo, para analizar los datos por época del año las réplicas de los hígados fueron sumadas por temporada del año. Por consiguiente, para esta prueba los datos representaron la suma de las réplicas de puesto e hígado. Así, el valor más alto que podía tener una especie era de nueve cuando se presentaba en todos los puestos e hígados en una época del año.

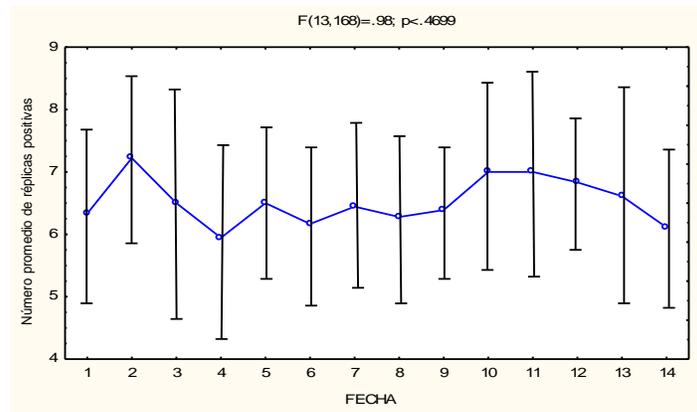


Fig. 1. Comparación del número de bacterias entre los días de descomposición del hígado.

31 especies de bacterias fueron colectadas en nuestro estudio. De ellas, 22 fueron encontradas en la estación lluviosa y todas ellas en la seca (Cuadro 1). El análisis de ANOVA del número total de réplicas positivas por días y temporada del año no arrojó diferencias estadísticamente significativas entre las fechas ($F_{13,156,5\%} = 1.0576$; $p = 0.400116$) (Fig. 1). El promedio total de réplicas positivas por día fluctuó entre 5.61 a 7.00 ($\bar{X} = 6.30 \pm 3$). Con respecto a la temporada del año, hubo diferencias significativas entre ellas ($F_{1,12,5\%} = 307.2$; $p \approx 0.0000$) (Fig. 2.), siendo el número promedio de réplicas positivas

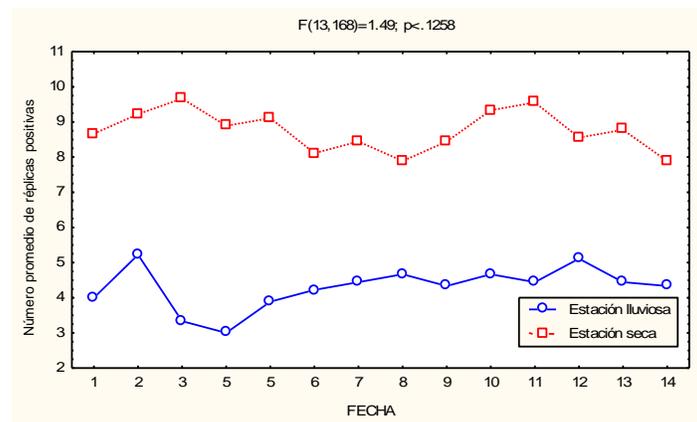


Fig. 2. Comparación del número de réplicas de bacterias de acuerdo a la temporada del año.

mayor en la temporada seca ($\bar{X} = 8.4 \pm 2.5$, $\Sigma = 1082$; mínimo = 0, máximo = 16) que en la estación lluviosa ($\bar{X} = 3.93 \pm 1.67$, $\Sigma = 507$, mínimo = 0, máximo = 8). En tanto que, el comportamiento de las fechas en ambas estaciones del año fue similar ($F_{13,156,5\%} = 1.4$; $p = 0.16$) (Fig. 2). Durante la estación lluviosa el promedio de réplicas positivas fue más bajo, aumentando desde el cuarto día para mantenerse constante desde el séptimo. Sin embargo, durante la estación seca, este promedio se mantuvo aproximadamente constante.

El Cuadro 1 muestra la asociación de las especies de bacterias con la temporada del año permitió diferenciar cuatro grupos. El primero formado por bacterias que sólo fueron colectadas en la época seca. El segundo constituido por aquellas que se presentaron en baja cantidad en la estación lluviosa. El tercero está comprendido por bacterias cuyas réplicas se encontraron en mayor cantidad en la temporada lluviosa.

El análisis de varianza de los días (Cuadro 1) para cada especie de bacteria indica que no hubo sucesión de especies. Sólo cuatro de ellas, *Y. intermedia*, *St. auricularis*, *St. capitis* y *Escherichia coli*, mostraron diferencias significativas entre los días

El análisis de correspondencia presenta un modelo aceptable de nuestros resultados. Las 31 especies se redujeron a dos dimensiones que explican el 51.3 % de la inercia total. La primera de ellas separa las bacterias en los tres grupos de acuerdo a su abundancia, explicando el 42.5% del Chi cuadrado total (Fig. 3). Estas agrupaciones corresponden a las obtenidas por la prueba de ANOVA (Cuadro 1). La segunda dimensión explica el 9% de la inercia, separando algunas bacterias, *Providencia alcalifaciens*, *Alcaligenes sp*, *Staphylococcus gallinarum*, de acuerdo a su abundancia en los tres primeros días de la temporada lluviosa.

Cuadro 1. Valores de las pruebas de significancia (F) para las bacterias encontradas por grupo.

Grupo de Especie	Entre Estación	Entre Hígado	Estación Seca	Estación Lluviosa	Mayor Número	Diferencias entre días
GRUPO 1						
<i>Hafnia alvei</i> (HA)	31.3*	0.60ns	0.79ns	—	Seca	No
<i>Citrobacter freundii</i> (CF)	279.8*	16.4*	0.10ns	—	Seca	No
<i>Yersinia intermedia</i> (YI)	105.0*	4.0*	1.98*	—	Seca	11 y 12 Seca
<i>Serratia marcescens</i> (SM)	82.1*	0.75ns	1.66ns	—	Seca	No
<i>Serratia fonticola</i> (SF)	97.0*	7.9*	1.20ns	—	Seca	No
<i>Vibrio damsela</i> (VD)	242.7*	14.3*	1.0ns	—	Seca	No
<i>Enterobacter aerogenes</i> (EA)	15.5*	1.7ns	1.12ns	—	Seca	No
<i>Xanthomonas maltophilia</i> (AM)	83.0*	0.6ns	1.12ns	—	Seca	No
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (KP)	80.1*	2.9ns	1.27ns	—	Seca	No
GRUPO 2						
<i>B. stearothermophilus</i> (BST)	25.6*	1.2ns	1.41ns	0.70ns	Seca	No
<i>Acinetobacter lwoffii</i> (ACL)	11.3*	5.78*	1.02ns	0.45ns	Seca	No
<i>Staphylococcus auricularis</i> (STA)	61.0*	1.24ns	4.08*	0.94ns	Seca	3, 6, 7, 8, 9, 10 Seca
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (PF)	39.5*	9.3*	1.59ns	1.06ns	Seca	No
<i>Chryseomonas luteola</i> (CHL)	9.7*	12.2*	1.69ns	0.60ns	Seca	No
<i>Acinetobacter baumannii</i> (AB)	8.3*	7.16*	1.10ns	0.30ns	Seca	No
<i>Pseudomonas species</i> (PS)	3.9*	1.04ns	0.79ns	0.84ns	Seca	No
<i>Providencia rettgeri</i> (PE)	7.9*	4.14*	0.45ns	1.14ns	Seca	No
<i>F. meningosepticum</i> (FM)	8.6*	0.87ns	1.44ns	1.23ns	Seca	No
<i>Staphylococcus capitis</i> (STC)	13.7*	2.9ns	4.90*	1.50ns	Seca	7 y 8 Seca
<i>Bacillus brevis</i> (BB)	5.4*	1.8ns	2.80*	1.48ns	Seca	No
<i>Klebsiella oxytoca</i> (KO)	1.0ns	3.48ns	1.13ns	0.91ns	Igual	No
<i>Proteus mirabilis</i> (PM)	0.25ns	3.02ns	3.05*	1.52ns	Igual	No
<i>Escherichia coli</i> (EC)	0.2ns	5.56*	2.54*	0.23ns	Igual	1 lluviosa 3 Seca
<i>Staphylococcus gallinarum</i> (STG)	1.79ns	1.51ns	0.68ns	1.33ns	Igual	No
<i>Staphylococcus sciuri</i> (STS)	0.91ns	4.70ns	0.75ns	1.61ns	Igual	No
<i>Bacillus subtilis</i> (BS)	1.51ns	3.30*	1.59ns	1.25ns	Igual	No
<i>Bacillus circulans</i> (BC)	0.00ns	1.56ns	0.59ns	1.71ns	Igual	No
GRUPO 3						
<i>Alcaligenes sp</i> (AL)	4.3*	1.4ns	1.04ns	0.23ns	Lluviosa	No
<i>Providencia alcalifaciens</i> (PA)	8.1*	0.69ns	6.20*	6.17*	Lluviosa	No
<i>Enterobacter sakazakii</i> (ES)	34.8*	0.55ns	0.55ns	3.03*	Lluviosa	No
<i>Enterobacter cloacae</i> (ENC)	114.6*	2.18ns	2.15ns	0.18ns	Lluviosa	No

* Diferencias estadísticamente significativas
 ns Diferencias no estadísticamente significativas.
 — No hubo réplicas positivas en esa época del año.

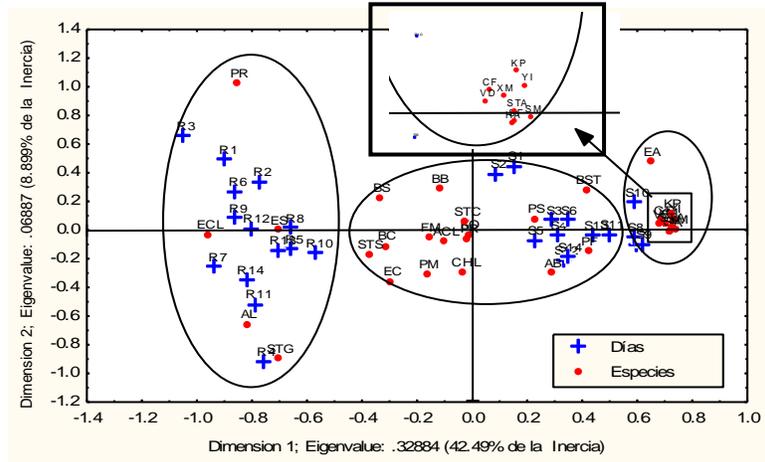


Fig. 3. Relaciones de los grupos bacterianos de acuerdo a los días de descomposición del hígado obtenido por el análisis de correspondencia. En el recuadro (a) aparece separado un pequeño subgrupo de bacterias cuya frecuencia es muy similar. Las especies están representadas por sus siglas que se encuentran en el cuadro 1.

DISCUSIÓN

No hay antecedentes donde se haya reportado la flora bacteriana asociada con el hígado en descomposición. Una alusión a ella fue hecha por DeVaney et al. (1973) al sospechar que la atracción del hígado en descomposición depende la presencia de bacterias. Sin embargo, algunos trabajos existen acerca de la flora microbiana en otros ambientes asociados a *C. hominivorax*. Por ejemplo, Poudevigne (1995) reporta la presencia de 16 especies de bacterias relacionadas con las heridas, de las cuales nueve de ellas se encontraron en nuestro estudio. Recientemente, Turner (1998) reportó el primer aislamiento de bacterias en heridas, reportando 16 especies de bacterias, de las cuales ocho aparecen el presente estudio.

Los resultados obtenidos aquí muestran la presencia de una comunidad bacteriana bien desarrollada, en la cual se detectó 31 especies de bacterias diferentes. El mayor número de especies en la temporada seca se puede atribuir a dos razones. Una es la presencia de un grupo

de especies que sólo aparecen durante esta época (grupo 1); mientras que la otra es la observación de un conjunto de bacterias que están presentes en la temporada lluviosa, pero el mayor número de réplicas positivas se presentó en la estación seca (grupo 2). Esto se puede atribuir al efecto de la temperatura (Balows et al., 1992; Brock & Madigan, 1993). Durante el presente trabajo se reportó una temperatura promedio de 27.1°C para la temporada lluviosa y de 31.2°C para la seca. Estas temperaturas son óptimas para muchas de las bacterias que aparecen en el estudio, como es el caso de *H. alvei* (35°C), *A. baumannii* y *A. lwoffii* (30 a 35°C), *Yersinia intermedia* (37°C), *S. Marcescens* y *S. fonticola* (36°C), esto explica la ausencia de ellas durante la época lluviosa.

La sucesión de especies bacterianas no se observó durante los catorce días de descomposición en nuestras muestras de hígado. Esto puede deberse a que las especies de bacterias encontradas en nuestro estudio no son capaces de subsistir solas. De acuerdo con Brock & Madigan (1993), las poblaciones en la naturaleza generalmente se encuentran en comunidades, muy rara vez viven solas.

Además de esto se debe considerar el papel de los insectos carroñeros que llegan al hígado. Herms & James (1961) señalan que ellos presentan una gran cantidad de bacterias y microorganismos, los cuales pueden contaminar este cebo. En el presente trabajo se pudo observar la presencia de una gran diversidad de insectos que llegaban al hígado, como: moscas de las familias Muscidae, Calliphoridae, Sarcophagidae; escarabajos de la familia Nitidulidae y Scarabaeidae (subfamilia Coprinae). Estas moscas se caracterizan por utilizar como fuente alimenticia cadáveres, materia orgánica en descomposición, heces fecales, etc (Greenberg & Szyska, 1984). Por lo tanto, la llegada constante de esas moscas pudo contaminar el hígado con bacterias lo cual contribuye al mantenimiento de una flora microbiana en él. Esto explica la razón por la cual, el número promedio de especies de bacterias fue constante durante los catorce días de descomposición de las muestras de hígado.

Algunas especies bacterianas aparecieron en las muestras del mercado público, *Escherichia coli*, *Alcaligenes sp.*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus sciuri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Providencia alcalifaciens*, *Citrobacter freundii*, *Providencia rettgeri*,

Enterobacter aerogenes, *Bacillus circulans*, *Bacillus stearothermophilus*, *Staphylococcus gallinarum*. Esto se puede explicar debido al proceso de manipulación del hígado de cerdo en este lugar. Como vemos, algunas de estas bacterias, como: *E. coli*, *En. cloacae*, *En. sakazakii*, *En. aerogenes* y *Pr. alcalifaciens*, son entéricas; pudiendo contaminar las muestras de hígados en este sitio (Balows et al.,1992). En el caso de las especies de *Staphylococcus* encontradas, éstas pudieron llegar al hígado a través de la piel de las manos y por la saliva. El resto de las especies; o sea los *Bacillus* pudieron ser adquiridos a través de esporas que se encuentran en el aire.

Algunas de las especies encontradas en nuestro estudio, también, han sido implicadas en la atracción de *C. hominivorax* en otras investigaciones. Por ejemplo, Eddy et al. (1975) reportan atracción de varias especies encontradas en el presente estudio, como son: *Providencia (=Proteus) rettgeri*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus brevis*, *B. subtilis*, *B.stearothermophilus* y *Eschericia coli*. Ellos señalan a *P. rettgeri* como la especie más atractiva, resultando tan atractiva como la combinación de las cuatro especies de *Proteus* y las doce de *Bacillus* que estudió. Un punto relevante de este trabajo es el hecho que estos investigadores encontraron una fuerte atracción oviposicional de las especies de *Bacillus*, entre las cuales estaban nuestras tres especies. *Proteus mirabilis* aparece en literatura como una bacteria que produce sustancias bactericidas, la mirabicilina (Erdmann et al.,1984). Hammack et al. (1987), usando pruebas con olfactómetro, demostraron la atracción de los vapores destilados de medios de cultivos inoculados con *P. rettgeri* hacia las hembras de la mosca gusanera. De esta manera, muchas de estas bacterias tienen que ver directamente con la atracción o la repelencia de la *C. hominivorax* hacia un material determinado. Sin embargo, muchos estudios deben ser hechos en este campo.

Los resultados obtenidos señalan la presencia de una rica flora bacteriana sobre el hígado, dentro de la cual aparecen varias especies implicadas en la atracción de la *C. hominivorax*, *Providencia (=Proteus) rettgeri*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus brevis*, *B. subtilis*, *B. stearothermophilus* y *Eschericia coli*. Sin embargo, se requiere conocer el papel del resto de las especies, como:*H. alvei*, *Y. Intermedia*, *Se. marcescens*, *S. fonticiola*, *V. damsela*, *En. aerogenes*, *X. maltophilia*, *Alcaligenes* sp, *F. meningosepticum*, *Ps. fluorescent*,

Ac. baumannii, *Ac. lwofii*, *Ch. luteola*, *St. auricularis*, *St. gallinarum* y *St. capitis*.

REFERENCIAS

Barlows, A., H.G. Trüpper, M. Dworkin, W. Harder & K. Schleifer. 1992. The Prokaryotes. 2nd Edition. Springer-Verlag. New York. Volume II, Vol. III, IV. 530 pp.

Borgstrom, F. A. 1938. Studies on experimental *Cochliomyia hominivorax* infestations with special reference to the bacterial flora and the development of immunity. Am. J. Trop. Med., 18: 395-411.

Brock, T.C. & M.T. Madigan. 1993. Biology of microorganisms. 6ta. Edición. Prentice Hall. New Jersey. pp. 761-775.

DeVaney, J. A., G. W. Hedí, B. D. Handke & E. López. 1970. Olfactory responses of the adult screwworm after removal of the antennae, mouthparts, tarsi and legs. J. Econ. Entomol., 63: 1816-1819.

DeVaney, J. A., G. W. Eddy, E. M. Ellis & R. Harrington, Jr. 1973. Attractancy of inoculated and incubated bovine blood fractions to screwworm flies (Diptera: Calliphoridae): role of bacteria. J. Med. Entomol., 10: 591-595.

Eddy, G. W., J. A. DeVaney & B. D. Handke. 1975. Response of the adult screwworm (Diptera: Calliphoridae) to bacteria-inoculated and inoculated bovine blood in olfactometer and oviposition tests. J. Med. Entomol., 12: 379-381.

Erdmann, G. R., M. Bromel, G. Gasnner, T. P. Freeman & A. Fisher. 1984. Antibacterial activity demonstrated by culture filtrates of *Proteus mirabilis* isolated from screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) (Diptera: Calliphoridae) larvae. J. Med. Entomol. 21: 159-164.

Hammack, L. 1990. Protein feeding and oviposition effects on attraction of screwworm flies (Diptera: Calliphoridae) to host fluids. Ann. Entomol. Soc. Amer., 83: 97-102.

Hammack, L. & G. G. Holt. 1983. Responses of gravid screwworm flies *Cochliomyia hominivorax*, to whole wounds, wound fluid, and standard blood attractant in olfactometer tests. J. Chem. Ecol., 9: 913- 922.

Hammack, L., M. Bromel, F. M. Duh & G. Gasner. 1987. Reproductive factors affecting responses of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to an attractant of bacterial origin. Ann. Entomo. Soc. Amer., 80: 775-780.

Hammack, L., J. G. Pomonis, R. A. Flath & H. Hakk. 1989. Multicomponent attractant for female screwworm flies, *Cochliomyia hominivorax*, in bovine blood. J. Chem. Ecol., 15: 25- 36.

Herms, W. B. & M. T. James. 1961. Medical Entomology. The Macmillan Company, New York, 616 pp.

Holt, G. G., T. S. Adams & W. D. Sundet. 1979. Attraction and ovipositional response of screwworms, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), to simulated bovine wounds. J. Med. Entomol., 16: 248-253.

Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley & Williams, Stanley. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9na. Edición. Williams & Wilkins. U.S.A. 544-551 pp.

Murray, R.G.E., F. Gerhardt, W.A. Wood & N.R. Krieg. 1994. Methods for General and Molecular Bacteriology. American Society for Microbiology. Washington D.C. 31 pp.

Parker, F. D. & J. B. Welch. 1991a. Alternative to sentinel animals for collecting egg masses from wild females of the screwworm (Diptera: Calliphoridae). J. Econ. Entomol., 84: 1476-1479.

Parker, F. D. & J. B. Welch. 1991b. Field comparisons of attractants for the screwworm fly (Diptera: Calliphoridae) in a Tropical Dry Forest in Costa Rica. J. Econ. Entomol. 84: 1189-1195.

Poudevigne, F. A. 1995. Ecología de la miasis: Aplicación a un nuevo sistema de colecta. I Seminario sobre el gusano barrenador del ganado, 13 al 24 de febrero de 1995, Universidad de Panamá.

Thomas, D. B. 1993. Behavioral aspects of screwworm ecology. J. Kansas Entomol. Soc., 66: 13-30.

Turner, A. 1998. Miasis Humana. Memoria del II Seminario Taller sobre el Gusano Barrenador, Universidad de Panamá, 55-58 páginas.

Recibido agosto de 2003, aceptado noviembre de 2003.