

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

CEDOBF



00737

AD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

ESCUELA DE BIOLOGIA

"DESARROLLO EXPERIMENTAL DE ONCHOCERCA VOLVULUS
A NIVEL DE LABORATORIO EN SIMULIUM METALLICUM"

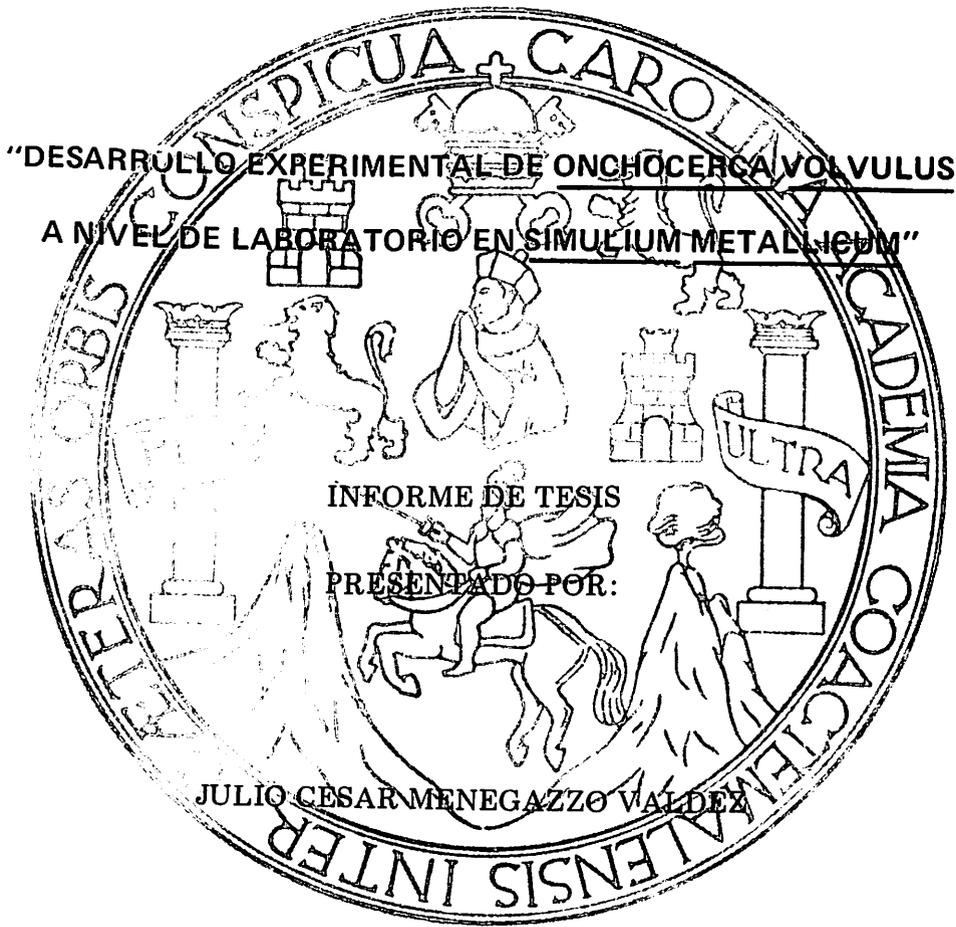


JULIO CESAR MENEGAZZO VALDEZ

GUATEMALA, C. A.

MFN 35

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE BIOLOGIA



PARA OPTAR EL TITULO DE:
BIOLOGO

GUATEMALA, JUNIO DE 1981

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Decano: Lic. LEONEL CARRILLO R.

Secretario: Lic. CARLOS AUGUSTO POSADAS V.

Vocal 1o.: Dr. JOSE HECTOR AGUILAR

Vocal 2o.: Lic. ENRIQUE BLANCO SALGUERO

Vocal 3o.: Lic. JUSTO COMAS FUXET

Vocal 4o.: Br. GUIDO VINICIO ARREOLA

Vocal 5o.: Br. ERICK ESTUARDO JUAREZ

TESIS QUE DEDICO

A Dios.

A mis padres: JOSE y VICTORIA

A mi esposa: AURA INES

A mis hijos: JULIO y ANTONIO

A mis hermanos:
MARIO y ETHEL
JORGE y REYNA
BYRON y DORA

A mis compañeros y amigos de la Escuela de Biología

RECONOCIMIENTO

A todas las instituciones y personas que en alguna forma intervinieron para llevar a cabo este trabajo de tesis,

Muy especialmente:

- A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- A la Escuela de Biología.
- Al Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria (SNEM)
- Al laboratorio "Dr. Isao Tada" del Programa de Cooperación Técnica Guatemala-Japón para la Erradicación de la Enfermedad de Robles, Onchocercosis, en Guatemala.
- A Lic. María Carlota Monroy Escobar, asesora y amiga.
- Al Dr. Hiroshi Takahashi, quién fuera jefe de la Misión Japonesa para el Programa de Cooperación Técnica Guatemala-Japón.
- Al Dr. Héctor A. Godoy B., Director de SNEM.
- Al Entomólogo J. Onofre Ochoa A., Jefe de Entomología del laboratorio "Dr. Isao Tada".
- A Técnicos de Entomología, Secretaria y demás personal guatemalteco del Programa de Cooperación Técnica Guatemala-Japón para la Erradicación de la Enfermedad de Robles, Onchocercosis, en Guatemala.
- A los propietarios de la Finca "Buena Vista" de Yepocapa, en Chimaltenango.
- A don Higinio Ramírez.

Muchas Gracias

INDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	5
3.1. Datos históricos	5
3.2. Causantes de la oncocercosis	5
3.3. Síntomas y manifestaciones	6
3.4. Cómo se diagnostica	7
3.5. Tratamiento y profilaxis	8
3.6. Transmisores de la enfermedad	9
3.7. Desarrollo de <u>O. volvulus</u> en <u>S. metallicum</u>	11
3.8. Morfología de la larva infectiva de <u>O. volvulus</u>	11
3.9. Desarrollo de <u>O. volvulus</u> en <u>S. ochraceum</u>	12
3.10. Mantenimiento de simúlidos en el laboratorio	12
3.11. Onchocercosis enfermedad endémica	13
4. JUSTIFICACIONES	15
5. OBJETIVOS	17
6. HIPOTESIS	19
7. ASPECTOS METODOLOGICOS	21
7.1. Lugar de trabajo en el campo	21
7.2. Lugar de trabajo en el laboratorio	21
7.3. Metodología de colecta de simúlidos	21
7.4. Forma de traslado al laboratorio	21
7.5. Método de cultivo y alimentación	22
7.6. Metodología de control	22
7.7. Metodología de disección	22
7.8. Recursos y medios	23
8. RESULTADOS Y DISCUSION	25
8.1. Clasificación de los estadios del desarrollo de la larva de <u>O. volvulus</u> en <u>Simulium metallicum</u>	25
Gráfica No. 1	27
8.2. Mortalidad de <u>S. metallicum</u> ingurgitado con sangre humana al ser transportado hacia el laboratorio	29
Tabla No. 1	31
Tabla No. 2	32
8.3. Sobrevivencia de <u>S. metallicum</u> en el laboratorio después de alimentados con sangre de voluntarios con y sin microfilarias en la piel	33
Gráfica No. 2	35
Gráfica No. 3	36
Gráfica No. 4	37

8.4.	Relación entre el máximo de sobrevivencia de <u>S. metallicum</u> después de alimentados con sangre humana, con respecto a la temperatura de cultivo, en condiciones de laboratorio.....	39
	Gráfica No. 5.....	41
8.5.	Aparecimiento de los estadios de desarrollo de la larva de <u>O. volvulus</u> en <u>S. metallicum</u> , a diferentes temperaturas.....	43
	Gráfica No. 6	45
	Serie de fotografías No. 1.....	47
8.6.	Relación entre la velocidad de desarrollo de la larva de <u>O. volvulus</u> en <u>S. metallicum</u> y la temperatura de cultivo.....	49
	Gráfica No. 7	51
8.7.	La temperatura de incubación y el porcentaje de sobrevivencia de <u>S. metallicum</u> al aparecimiento de la larva en tercer estadio de <u>O. volvulus</u> , en tórax y cabeza	53
	Tabla No. 3	55
8.8.	Porcentaje de infección de <u>S. metallicum</u> con larvas de <u>O. volvulus</u> y la temperatura de cultivo.....	57
	Tabla No. 4	59
	Tabla No. 5.....	59
8.9.	Número de larvas de <u>O. volvulus</u> encontradas en <u>S. metallicum</u> , hasta los doce días después de la alimentación con sangre de un voluntario con microfilarias en la piel	61
	Gráfica No. 8	63
	Gráfica No. 9	64
8.10.	Número promedio de larvas infectivas de <u>O. volvulus</u> que se localizan en <u>S. metallicum</u> , a nivel de todo el cuerpo y en la cabeza, con respecto a la temperatura	65
	Gráfica No. 10	67
8.11.	Longitud promedio de la larva en tercer estadio de <u>O. volvulus</u> en <u>S. metallicum</u> , y la temperatura de incubación	69
	Gráfica No. 11	71
8.12.	Algunas anormalidades de la larva de <u>O. volvulus</u> al desarrollarse en <u>S. metallicum</u>	73
	Serie de fotografías No. 2	75
8.13.	Otros parásitos localizados en <u>S. metallicum</u>	77
	Serie de fotografías No. 3	79
9.	CONCLUSIONES	81
10.	RECOMENDACIONES	83
11.	BIBLIOGRAFIA	85
	- Anexo No. 1.....	i
	- Anexo No. 2.....	iii
	- Anexo No. 3.....	v
	- Anexo No. 4	vi
	- Anexo No. 5	vii

El trabajo de tesis aquí presentado se realizó en fincas de Chimaltenango y Escuintla, departamentos que pertenecen a la región endémica para la oncocerciasis en Guatemala.

Como actividades básicas: se localizó puntos de mayor densidad de S. metallicum en algunas regiones endémicas del país. Se realizó capturas de S. metallicum ingurgitados con sangre de voluntarios humanos, con y sin microfilarias en la piel, para ser transportados al laboratorio en la ciudad capital y ser incubados a diferentes temperaturas. Se controló sobrevivencia y se disectó a los insectos que fueron muriendo y a algunos vivos que suferon sacrificados.

La incubación se efectuó a diferentes temperaturas: 14, 18, 22, 24, 28 y 30°C, y las disecciones se hicieron en cabeza, tórax y abdomen, por separado en un mismo portaobjetos, usándose como medio solución salina al 0.9%.

De los resultados más importantes que se obtuvo, se puede mencionar que, en condiciones de laboratorio:

- 1) Hay un bajo porcentaje de mortalidad en el transporte y mantenimiento de S. metallicum, posiblemente por las técnicas aquí usadas;
- 2) La temperatura afecta directamente la sobrevivencia de S. metallicum, a menor temperatura, mayor sobrevivencia;
- 3) El número de larvas de O. volvulus presentes en S. metallicum afecta la sobrevivencia de éste, a menor número de larvas, mayor sobrevivencia.
- 4) El rango de temperatura para el desarrollo de O. volvulus desde microfilaria a filaria de tercer estadio en S. metallicum está entre 18 y 30°C;
- 5) La temperatura crítica para el desarrollo de O. volvulus en S. metallicum posiblemente es a 18°C, ya que a 14°C no se desarrolla a larva de tercer estadio.
- 6) El desarrollo de S. volvulus en S. metallicum es desordenado y con mayor frecuencia a temperaturas bajas, como 14 y 18°C;
- 7) La velocidad de desarrollo de O. volvulus en S. metallicum es afectada por la temperatura, ya que a mayor temperatura es menor el tiempo requerido;
- 8) El porcentaje de infección en S. metallicum con O. volvulus es más bajo en los extremos del rango de temperatura o sea a 18 y 30°C;
- 9) La larva de O. volvulus al desarrollarse en S. metallicum tiende a sufrir deformaciones, con mayor frecuencia a temperaturas bajas como 14 y 18°C;
- 10) La temperatura óptima de desarrollo de O. volvulus en S. metallicum parece estar entre 26 a 28°C, ya que aquí sufren menos deformaciones, su desarrollo es más sincronizado, hay mayor sobrevivencia del vector al día en que aparece la larva infectiva en la cabeza y el número de larvas de O. volvulus en desarrollo es mayor.

2.

INTRODUCCION

La oncocercosis es una enfermedad endémica propia de ciertos países situados en la zona tórrida. Guatemala es uno de ellos, en donde fue descubierta en el nuevo mundo por el doctor Rodolfo Robles, por eso en nuestro medio se le conoce también como "Enfermedad de Robles".

Es una enfermedad que ocasiona una serie de trastornos en el organismo de las personas afectadas, por lo que en los países donde existe se ha tratado de encontrar medicamentos, vacunas, larvicidas, etc. para contrarrestarla.

En Guatemala desde su descubrimiento hace 65 años se ha luchado por combatirla sin encontrar en la actualidad un medio eficaz para ello.

Por esa causa, los gobiernos de Guatemala y el Japón establecieron desde 1975 un convenio con el cual han creado un programa llamado: "Programa de Cooperación Técnica Guatemala-Japón para la Erradicación de la Enfermedad de Robles, Onchocercosis".

En donde se ha llevado a cabo una serie de estudios que sirvan para ayudar a encontrar un medio para erradicar la enfermedad en nuestro país.

La presente tesis se llama: "INFECCION EXPERIMENTAL DE SIMULIUM METALLICUM CON ONCHOCERCA VOLVULUS A NIVEL DE LABORATORIO". La idea de este trabajo experimental es tratar de corroborar el efecto que tiene la temperatura en la transmisión de la oncocercosis, tomando en cuenta la influencia que ésta tiene en la sobrevivencia del mosquito, la velocidad de desarrollo de la larva de O. volvulus, así como las deformaciones que le pueden ocurrir al desarrollarse en S. metallicum.

3.

ANTECEDENTES3.1. DATOS HISTORICOS

La oncocercosis es una enfermedad endémica producida por una filaria que pertenece al género Onchocerca, (Diesing) 1841.

Esta filaria fue descrita por Leuckart y Manson en 1893 en Africa Occidental, cuando en la Costa de Oro; hoy Ghana, encontró especímenes en unos tumores que les extrajo a dos nativos del lugar (8, 9).

Railliet y Henry (1910), nombraron a esta especie volvulus.

La oncocercosis es la enfermedad que en nuestro medio se conoce mejor como la enfermedad de Robles. Ya que el doctor Rodolfo Robles en 1915, descubrió por primera vez la oncocercosis americana en Guatemala, al extirpar un tumor a un niño enfermo con lo que parecía erisipela. Este tumor fue examinado y encontró en él un parásito que parecía una filaria, lo que más tarde confirmó (29).

En 1916, el doctor Eduardo Aguirre Velásquez, dió la primera noticia del notable descubrimiento de Robles en su periódico "La República" (13).

En 1918, el doctor Rafael Pacheco Luna, distinguido oftalmólogo guatemalteco describe por primera vez al mundo; los síntomas oculares que presenta esta enfermedad (1).

El doctor Robles, en 1919, propone su famosa hipótesis, donde afirma que los insectos de la familia Simuliidae son los transmisores de este nuevo disfuncionamiento orgánico en América (29).

En 1919, Brumpt denominó Onchocerca caecutiens a la especie responsable de la oncocercosis de Guatemala (9, 30).

Los estudios de Blacklock (1926), demostraron la hipótesis de Robles; de que el Simúlido sirve de huesped intermedio para las larvas de Onchocerca volvulus; además fue confirmado por Strong en Guatemala (1931).

En 1942, Vargas descubrió que las microfilarias migran desde el estómago del mosco a los músculos torácicos para desarrollarse, los cuales se sitúan aproximadamente en el mismo plano transversal de éstos (8).

3.2. CAUSANTES DE LA ONCOCERCOSIS

En Guatemala la O. volvulus es la causante de la enfermedad de Robles. Este filárido es un gusano cilíndrico liso, nemátodo parásito que se puede encontrar en el hombre en dos formas o estados.

3.2.1. Forma de microfilarias (mf)

Que son las que se encuentran en mayor cantidad en el organismo humano. Pueden medir de 285 a 368 micras de longitud por 6 a 9 micras de diámetro, que presentan una serie de núcleos germinales, compactos y cromatofílicos (29).

Los extremos anterior y posterior de las microfilarias están libres de núcleos, así como la región del poro excretor.

Estas microfilarias raramente aparecen en la sangre periférica, pero frecuentemente se encuentran en los vasos linfáticos del tejido conectivo y niveles cutáneos cerca de los gusanos adultos, así como en el estrato germinativo y la conjuntiva corneal.

3.2.2. Forma de filaria adulta:

Como filarias adultas forman los tumores, nódulos u oncocercomas. Son vermes filariformes de color blanco opalescente y transparente. El macho mide de 1.0 a 5.2 cms. de largo por 130 a 210 micras de diámetro, con estriaciones transversales en la cutícula y con ambos extremos redondeados. En la extremidad anterior tiene ocho papilas sésiles colocadas en dos anillos. Es estrechamente recurvado en la parte ventral de su extremo posterior, y tiene un número de papilas perianales; las cuales varían considerablemente en número, tamaño y simetría.

Las hembras son mucho más grandes que los machos, miden de 16.8 a 69.7 cms. de largo por 270 a 400 micras de diámetro, con la vulva ligeramente abierta hacia atrás de la extremidad posterior del esófago. En el útero los embriones están primero en forma ovoide, para luego alargarse. Estos embriones alargados (mf) se escapan deliberadamente del útero de la madre (8, 9).

3.3. SINTOMAS Y MANIFESTACIONES

La enfermedad de Robles (Onchocercosis), es una enfermedad considerada de tipo crónico, aunque no mortal, pero; provoca en el organismo una serie de trastornos tomando en cuenta dos aspectos:

3.3.1. Presencia de *O. volvulus* adulta en el cuerpo:

Las filarias adultas son las que producen menos complicaciones sintomatológicas, ya que machos y hembras viven apelotonados en nódulos fibrosos que se localizan generalmente en el tejido celular subcutáneos, considerandose éstos como focos productores de microfilarias (mf).

Los nódulos u oncocercomas son cápsulas fibrosas de colágeno; gris-blanquecino en la periferia y en la parte central están las filarias adultas apelotonadas y microfilarias en una porción suave amarillenta y grumosa.

Con el tiempo, por traumatismo o infecciones, los nódulos pueden sufrir fibrosis caseificación o calcificación (1).

Los nódulos generalmente son subcutáneos, pero pueden ser subaponeuróticos y yuxtarticulares, adheridos al periostio y hasta en fosas excavadas del hueso, miden de 1 a 2 mm. de diámetro, pero por el número de adultos que forman la colonia pueden llegar a 5 y 8 cms.

El número de nódulos es de 3 a 6, pero se ha encontrado hasta con 150; son generalmente indoloros y con consistencia y dureza característica (8).

3.3.2. Presencia de microfilarias en el cuerpo

Entre los parásitos filáridos que infectan al hombre, la O. volvulus, produce mayor número y variedad de lesiones cutáneas.

Las microfilarias en el organismo son las que mayores problemas producen, ya que se encuentran en gran número, por lo tanto necesitan mayor cantidad de alimentos para sobrevivir, causando los siguientes síntomas:

- 3.3.2.1. inicialmente produce escozor en la piel cuando la va ocupando,
- 3.3.2.2. se da una despigmentación en la piel por pérdida de la melanina,
- 3.3.2.3. ocurre la oncodermatitis que es un tipo alérgico irritativo de la piel, que se conoce como "erisipela de la costa", lo que trae consigo modificaciones en la piel como prurito, aspecto leproide y dermatitis especialmente a nivel de brazos, manos y nuca, que se conoce comúnmente como el "mal del leopardo" y "mal morado".
- 3.3.2.4. produce lesiones en los ojos, lo que se considera como lo más complicado y que se lleva a cabo como consecuencia de dos mecanismos bien establecidos.

Primero: por productos secretados de las microfilarias vivas, (enzimas del grupo de las proteasas).

Segundo: las toxinas producidas por la muerte y desintegración de las microfilarias. Lo que causa las siguientes molestias:

- Si las microfilarias llegan a la córnea, causa queratitis esclerótica, o bien un edema de la conjuntiva.
- Si llega a la órbita ataca el nervio óptico causando la ceguera parcial o total.
- Si muere en la cámara anterior produce iritis crónica.
- Si parasita en la cámara posterior, el nervio óptico y la retina, entonces produce la ceguera (1, 8, 21).

3.4. COMO SE DIAGNOSTICA

Desde el punto de vista clínico, la presencia de nódulos subcutáneos, manifestaciones cutáneas y lesiones oculares en las zonas endémicas pueden servir para diagnosticar la presencia de la enfermedad de Robles (1).

Los nódulos, onchocercomas o simplemente filarias pueden palparse fácilmente, localizándose con mayor frecuencia en Centro América, en la parte superior del cuerpo (26).

La biopsia de una pieza pequeña de la epidermis colocada sobre un portaobjetos; en solución salina fisiológica, es una técnica satisfactoria para la demostración de microfilarias (8).

En un número de casos que fueron examinados en piezas de piel, en cuatro regiones del cuerpo donde hay mayor densidad de microfilarias son: región escapular, región pélvica, muslo y cabeza (4).

Como se sabe, actualmente las microfilarias han sido encontradas en casi todos los órganos del cuerpo y nada raro sería que llegaran hasta la hipófisis (12).

En caso de nódulos no palpables o con biopsias negativas se utiliza métodos inmunológicos de diagnóstico.

En 1973 el doctor Kagan recopiló varios métodos de inmunología para la detección temprana de la enfermedad, entre éstos están:

Prueba de inmunorreacción (Skin Test)
 Test de inmunofluorescencia.
 Test de hemaglutinación indirecta (IHA)
 Difusión de agar. (Ouchterlony e inmunoelectroforesis)
 Test de inmunoredioabsorción (para detectar IGE),
 Otros.

En Guatemala se usan los métodos siguientes:

3.4.1. Método de hemaglutinación indirecta (IHA)

La técnica empleada del test de hemaglutinación indirecta sobre una microplaca fue una modificación del método reportado por Jacobs y Lande (1956), hecha por M. Kaniya y H. Tanaka (1968) y por M. Takaoka (1972). Y se basa en el fenómeno en el cual se expone una red de células sanguíneas a un antígeno; para sensibilizarla hacia un anticuerpo homólogo.

3.4.2. Método de doble difusión de Ouchterlony

Que se basa en una reacción de precipitación y es una técnica analítica muy útil para la identificación de antígenos y antisueros desconocidos.

Se puede realizar en medios líquidos y en geles de agar (Ouchterlony), pero se utiliza mucho la reacción de precipitación en geles de agar durante el estudio de diagnósticos de inmunología en la medición cualitativa de inmunoglobulinas.

Al difundirse el antígeno de O. volvulus y el anti-suero de O. volvulus, D. immitis y A. lumbricoides, en el agar forman bandas de precipitación, que puede verse a través del agar como una banda o línea opaca de color azul.

3.4.3. Prueba de inmunorreacción (Skin Test):

Que actualmente se inocular antígeno con O. volvulus, lo que da una reacción cutánea y de acuerdo al diámetro de la erupción, así se determina la presencia de microfilarias, a mayor diámetro, mayor es la determinación de la infección.

3.5. TRATAMIENTO Y PROFILAXIS

En Centro América se ha practicado durante más de 50 años la extirpación de nódulos o desnodulación, que se realiza con anestesia local y los cuidados de asepsia y antisepsia - de rigor, y aunque la incidencia de la enfermedad apenas se ha reducido, si se ha comprobado que ha dado efectos favorables en la prevención de la ceguera.

El problema es la localización de los nódulos profundos, por lo que este tratamiento no es totalmente suficiente (1, 8).

Como quimioterapia en 1935 Robles en su artículo: "Otro dato sobre la albahaca", propone el uso del aceite esencial de albahaca en el tratamiento contra la microfilaria (13).

Para tratar la oncocercosis se dispone básicamente de dos medicamentos:

3.5.1. El Hetrazán (dietilcarbamizina), que es un derivado de la piperazina (dietilendiamina), que se administra por vía oral en dosis de 10 mg. por kilo de peso; durante 10

a 21 días.

Este mata a las microfilarias, pero no a los vermes adultos; por lo que pueden reaparecer entre 3 a 6 meses. La muerte de las microfilarias puede traer fenómenos alérgicos (reacción de Mazzotti), que pueden ser moderados o graves, según la susceptibilidad del paciente (17, 21).

- 3.5.2. La Suramina (Bayer 205, Germánica, Naphurine), que se administra por vía endovenosa, con intervalos de 4 a 7 días, disolviendo un gramo en 10 cc de agua destilada

Esta mata a los gusanos adultos y disminuye a las microfilarias, pero hay que usarla con precaución por sus efectos colaterales como: dolores abdominales, musculares, de las articulaciones y pies, náuseas hasta prurito y reacciones oculares aparentemente alérgicas, además puede causar nefritis y uremia hasta la muerte, (8, 2).

Como medidas de prevención y profilaxis para la oncocercosis se recomienda:

- a) La desnodulación para quitar en parte la fuente de infección.
- b) El control y erradicación del vector, y el único medio actual es la destrucción de las larvas del simúlido; usando insecticidas en el agua de los criaderos.

En Africa y Canadá se ha usado por muchos años DDT, en la actualidad se dispone de insecticidas biodegradables que no presentan ningún riesgo de contaminación duradera del medio (17).

En Guatemala se usa en algunas regiones larvicidas como el Abate y Sumithion, lo que ha dado buenos resultados, bajando la densidad de simúlidos en las áreas donde se ha aplicado. Esto como parte del Proyecto Guatemala-Japón para la erradicación de la oncocercosis en Guatemala.

- c) Los eventuales medios biológicos de lucha antivectorial están todavía en la fase inicial de su experimentación y que probablemente podría ser con el uso de bacterias, hongos o bien otros nemátodos que puedan ser parásitos del vector.

3.6. TRANSMISORES DE LA ENFERMEDAD

Strong et al. desde 1934 determinó como vectores de O. volvulus, en Guatemala a 3 especies de simúlidos que son:

- Simulium (Simulium) ochraceum, Walker.
- Simulium (Simulium) metallicum, Bellardi
- Simulium (Simulium) callidum, Dyar Shannon.

El Simulium ochraceum, es considerado el más importante vector de la oncocercosis humana en Guatemala, seguido por S. metallicum y S. callidum (5).

Estos dípteros se conocen vulgarmente como: moscos del café, alazantes, mosco prieto rodadores, borrachudos y en inglés black flies (9).

El aparato bucal es suctopizador en la hembra, siendo en el macho rudimentario y no adaptado para picar.

Las hembras se alimentan de sangre después de la cópula y ponen de 350 a 500 huevecillos. Los huevos son depositados sobre hojas, raíces, piedras u otros materiales sobre el agua.

Tomando en cuenta que la hembra es la única que pica y transmite la oncocercosis, presenta las siguientes características:

Hembra de S. onchraceum:

Mide: 2,3 cms. de largo.

Cabeza: negra.

Tórax: color naranja a nivel dorsal y amarillo claro a nivel ventral.

Abdomen: color amarillo, con el último segmento negro.

Patas: negras.

Hembra de S. metallicum:

Mide: 2.3 cms. de largo,

Cabeza: negra.

Tórax: negro con franjas longitudinales blancas en posición dorsal,

Abdomen: negro metálico a la luz solar,

Patas: negras, que se aclaran a casi gris, con manchas blancas en los tarsos posteriores.

Hembra de S. callidum:

Mide: 3.1 cms. de largo, más grande que los anteriores.

Cabeza: negra.

Tórax: amarillo claro.

Abdomen: negruzco a gris, a nivel dorsal a amarillo claro a nivel ventral.

Patas: con amarillo y negro (25).

En 1955 Dalmat notó un pronunciado comportamiento zoofílico para el S. metallicum y S. callidum y marcados hábitos antropofílicos para el S. ochraceum, lo que lo hace probablemente el principal vector (16).

Giaquinto (1937), Vargas (1945) y Guttman consideran a S. metallicum, no una especie estrictamente antropofílica, sino que zoofílica; ya que se ha visto a esta especie alimentándose de équidos, bóvidos y cánidos.

De León en 1958 establece un 98% de preferencia del S. ochraceum, para el hombre y apenas 13% al S. metallicum.

La conducta de la hembra de S. metallicum, al hematofagismo es la siguiente:

- a) Empieza a picar desde las 7 a.m. mayor actividad de 8 a 10 a.m. y sigue hasta las 5:30 p.m.
- b) El hematofagismo se inicia entre 17°C a la sombra y 22°C en el sol y con ligero aumento entre 27 y 28°C bajo el sol, y 25 a 27°C en la sombra.
- c) Humedad relativa baja o alta pero, mayor actividad entre 81 y 90%.
- d) Prefiere las partes bajas del hombre, especialmente piernas y en regiones con sombra del cuerpo (29).

De León y Duke hicieron sugerencias de que S. metallicum, es probablemente más responsable de la transmisión de la enfermedad que los datos que indica la infección experimental, por su larga vida.

Sin embargo, el desarrollo relativamente malo del parásito dentro de S. metallicum, - junto con la alta mortalidad causada por la ingestión de más de 5 a 6 mf, puede ofrecer una explicación por la inability de encontrar con infección natural de O. volvulus, en tercer estadio en las zonas endémicas de Guatemala (6).

3.7. DESARROLLO DE O. VOLVULUS EN S. METALLICUM

Según Ramírez-Pérez et al. en 1976, al incubar S. metallicum en Venezuela, a temperaturas entre 25 y 30°C, encontró que entre dos a seis horas después de ingurgitado el mosco llegan las microfilarias a la musculatura torácica.

Nelson y Pester en 1972 aseguran que la O. volvulus, no se desarrolla en ningún lugar del cuerpo dentro del mosco, excepto en los músculos torácicos (24).

A partir de 24 horas dentro del cuerpo del mosco; la microfilaria se transforma en larva de Primer Estadio, con lo cual el cuerpo se ensancha y se acorta. En la extremidad caudal se presenta un apéndice en forma de espina (de cutícula). La larva se hace menos activa, mientras que la mf se retuerce constantemente.

A las 48 horas la larva se sigue reduciendo y engrosando, las células de la columna de núcleos se hace más grande y comienza a formar el primordio del futuro intestino.

A las 54 horas ya hay vestigios del anillo nervioso, la larva toma forma de salchicha y el contorno del tubo digestivo se hace más evidente (29).

A las 72 horas (3 días), el tubo digestivo se hace ya definido, la mitad anterior del esófago es muscular y la mitad posterior es glandular separado por el anillo nervioso. Aparece la ampolla anal o poro anal y el recto, se compone de 6 a 12 células que forman una corona en cima de esta ampolla. El lumen del intestino presenta una serie de esferas refrigerantes, del lado externo del poro anal se forma una enorme vesícula.

A los 4 días ocurre la Segunda Muda y es en este momento cuando la larva crece rápidamente, perdiendo su forma de salchicha.

A los 7 días la larva en Tercer Estadio se puede encontrar en la cápsula cefálica del mosco y se considera metacíclica Infectiva, a perdido su extremidad caudal, presentando apenas dos papilas terminales, con una longitud de 500 a 600 micras (29).

3.8. MORFOLOGIA DE LA LARVA INFECTIVA DE O. VOLVULUS

La terminación caudal de la larva infectiva se angosta un poco atrás del ano, éste frecuentemente es muy prominente.

Blacklock describe una papila anal que no se ve cuando el ano está hacia arriba (4).

La extremidad posterior es redondeada con una papila terminal pequeña y dos papilas subterminales en posición ventral no visibles.

La cola tiene la distancia del ano a la extremidad caudal y es de 31.2 micras.

El radio anal, que es el largo de la cola dividido por el ancho, tiene promedio de 2.3 micras.

La región más ancha promedio de la larva es de 18.7 micras (24).

La forma general fue parecida a la larva de Onchocerca gibson, descrita por Bukley en 1938. La larva de las dos especies se va disminuyendo hasta el extremo anterior.

El intestino de la larva infectiva de O. volvulus está dividido en tres regiones, frecuentemente se pueden observar en preparaciones sin tinción, no hay vacío bucal distintivo. El

esófago anterior y posterior están distinguidos claramente y su largo combinado es más de 60% del largo total de la larva (24).

3.9. DESARROLLO DE O. VOLVULUS EN S. OCHRACEUM

Duke ha descrito varios estadios para el desarrollo de O. volvulus en S. damnosum, utilizando letras de la A a la L (9).

Monroy E. en su trabajo para el desarrollo de O. volvulus en S. ochraceum, determinó tres estadios tomando como base la escala de Duke; así: las etapas A, B, C y D para el primer estadio.

Cuando se inicia el tracto digestivo a partir de E, F, G, H, I, J, y K para el Segundo Estadio.

K se considera larva Pre-Infectiva.

Se observa dos mudas de piel y la segunda muda separa la larva preinfectiva del segundo estadio con la larva Infectiva, L o de Tercer Estadio (23).

En S. ochraceum a 14°C no aparecen larvas del tercer estadio.

A 18°C es la temperatura crítica en que aparece la larva Infectiva de O. volvulus, a nivel de laboratorio, apareciendo a los 18 días de cultivo.

A 20°C la larva infectiva aparece al octavo día, mientras que a 24°C al séptimo día ya se encuentran larvas del tercer estadio en el tórax.

A 28°C la larva infectiva aparece al sexto día y a 30°C la larva del tercer estadio aparece en el tórax en el quinto día y al sexto en la cabeza (23).

3.10. MANTENIMIENTO DE SIMULIDOS EN EL LABORATORIO

El método para el mantenimiento a corto plazo de Simúlido; fue descrito por Lewis en 1960 (14).

Gibson en 1965 reportó que S. ochraceum, S. metallicum y S. callidum ingurgitados, fueron colectados en campos de Guatemala y aproximadamente la mitad vivieron 2 días, alrededor del 5% sobrevivieron una semana. Sólo vivieron 13 días manteniéndolos en masa en el laboratorio, a temperatura aproximada de 20°C.

De León y Duke (1966) mantuvieron a los adultos de las tres especies vectoras de Guatemala, viviendo de 7 a 9 días un número considerable de moscos, mantenidos individualmente en tubos plásticos a temperatura entre 22 a 27°C.

Figuroa et al. (1977) también reportaron de 68 a 71% de sobrevivencia por 7 a 8 días después de ingurgitados para el S. ochraceum de Guatemala, preservándolos en tubos individuales, conteniendo un algodón humedecido con una solución de sucrosa al 30% y revisándolos cada 2 o 3 días.

Matsuo K. et al. (1978) logró sobrevivencia de S. ochraceum de Guatemala en el laboratorio, hasta por 25 días utilizando algodón humedecido en solución de azúcar al 25% y solución saturada de azúcar, reemplazando los algodones humedecidos cada semana y utilizando temperaturas de 20 y 25°C (20).

El mantenimiento de los Simúlidos en el laboratorio se hace en tubos individuales "Falcon" de plástico de 75 mm. de largo por 12 mm. de diámetro, descritos por Figueroa et al. en 1977.

Adherido a las paredes internas del tubo se debe colocar un papel filtro de 50 por 100 mm. para darle mayor espacio superficial de movimiento al mosco.

Los tubos Falcon se cubren con una tira de gasa en la abertura y se coloca un casquete de plástico que en su interior tiene una bola pequeña de algodón humedecido con solución de azúcar (15).

Los tubos ya conteniendo los moscos se colocan en pequeñas cajas de plástico con aperturas, se envuelven en toallas húmedas para mantener la humedad relativa y se colocan dentro de la incubadora a temperatura constante que se desea trabajar.

3.11. ONCHOCERCOSIS ENFERMEDAD ENDEMICA

Este disfuncionamiento orgánico prevalece en áreas ecológicas definidas, zonas montañosas, clima tropical, templado y húmedo. Con vegetación exuberante que propician los cultivos de café y en donde hay una amplia red hidrográfica.

Se detecta mayor casos de enfermedad en regiones que se localizan según la altura entre 500 y 1,200 metros sobre el nivel del mar, lo que la hace una enfermedad endémica, decrece paulatinamente y ya no hay transmisión en lugares arriba de los 1,800 mts. (18).

La enfermedad de Robles, onchocercosis se ha calculado que afecta entre 20 a 40 millones de personas a nivel mundial y la población más afectada está en Africa, sur de Sahara, Yemén y en América Latina (3, 17).

Siendo Guatemala a uno de los países de América donde se presenta esta enfermedad, se encuentra localizada en regiones de clima vertical o de montaña, cerca de vertientes o nacimientos y en riachuelos pequeños de corriente rápida, especialmente en altitudes que van de los 500 a los 1,200 mts. Cerca de plantaciones de café, con temperaturas más o menos altas (promedio de 24°C) y humedad relativa entre 95 a 98%.

Para Guatemala se conoce que esta enfermedad es endémica para siete departamentos y de éstos sólo en 25 del total de sus municipios, más o menos 550 localidades que corresponden al 9.8% del total de la república y que en conjunto comprenden 5,130 Kms².

En nuestro país la población afectada es de 31,000 personas de diferente sexo y edad (22, 25).

Por su localización geográfica, los 7 departamentos de Guatemala están divididos en 4 zonas endémicas para la Onchocercosis, son ellos:

Zona No. 1: Se encuentra en el departamento de: Huehuetenango, en los municipios de San Antonio y Santa Ana Huista, San Pedro Necta, Cuilco, La Democracia y La Libertad.

Zona No. 2: En los departamentos de Suchitepéquez, Sololá, y Chimaltenango, con los municipios siguientes:

Suchitepéquez: Chicacao, San Miguel Panan, Santa Bárbara, San Juan Bautis-

ta y Patulul.

Sololá: San Lucas Tolimán y Santiago Atitlán.

Chimaltenango: Pochuta, Yepocapa y Acatenango.

Zona No. 3: Corresponde a los departamentos de Escuintla y Guatemala, siendo sus municipios:

Escuintla: Santa Lucía Cotzumalguapa, Escuintla, Palín, San Vicente Pacaya y Guanagazapa.

Guatemala: Sólo Villa Canales.

Zona No. 4: Para el Departamento de Santa Rosa, con los municipios siguientes: Pueblo Nuevo Viñas, Taxisco y Guazacapán.

4.

JUSTIFICACIONES

Uno de los problemas actuales para la erradicación de este disfuncionamiento orgánico en nuestro país, es que se desconocen muchos aspectos de carácter biológico tanto del vector, como del organismo responsable de esta enfermedad.

Se ha hecho una serie de trabajos de carácter científico en Guatemala, sobre el principal vector que es el Simulium ochraceum, principalmente sobre infección experimental con microfilarias de Onchocerca volvulus a nivel de laboratorio y de campo.

También se ha hecho ciertas investigaciones con Simulium metallicum, ya que se ha considerado que puede ocupar el segundo lugar en potencial de transmisión de O. volvulus, pero es importante afirmar ciertos aspectos ya estudiados y realizar otros para considerar a este insecto como un verdadero vector o descartarlo como tal.

La lucha antilarvaria es actualmente el único medio económicamente factible en Guatemala para tratar de erradicar la onchocercosis. En el uso de larvicidas es de suma importancia distinguir los criaderos a tratar.

Los criaderos de S. metallicum y S. ochraceum son diferentes, por lo que clarificar definitivamente el papel de S. metallicum como vector de la Onchocerca volvulus es uno de los primeros pasos a seguir en el control de la onchocercosis.

5.

OBJETIVOS

- 5.1. Encontrar la temperatura óptima en la cual se desarrolla la Onchocerca volvulus en Simulium metallicum.
- 5.2. Encontrar el rango de temperatura en que se puede desarrollar la O. volvulus, desde microfilaria hasta filaria infectiva en Simulium metallicum.
- 5.3. Encontrar el número promedio de larvas infectivas de Onchocerca volvulus; que se pueden desarrollar en Simulium metallicum.
- 5.4. Conocer la sobrevivencia de Simulium metallicum en condiciones de laboratorio, ingeridos de sangre sin y con microfilarias de Onchocerca volvulus.

6.

HIPOTESIS

Estos experimentos se realizan tratando de comprobar si:

- 6.1. La temperatura afecta directamente el desarrollo de la larva de Onchocerca volvulus. A mayor temperatura, menor es el tiempo de desarrollo.
- 6.2. El tiempo de desarrollo de la Onchocerca volvulus en los músculos de Simulium metallicum, difieren del tiempo establecido para el principal vector.
- 6.3. La temperatura afecta la sobrevivencia de Simulium metallicum; en condiciones de mantenimiento en el laboratorio.
- 6.4. La temperatura afecta el número de larvas de Onchocerca volvulus en desarrollo dentro del Simulium metallicum.

ASPECTOS METODOLOGICOS

7.

7.1. LUGAR DE TRABAJO EN EL CAMPO

7.1.1. Finca "Buena Vista", municipio de Yepocapa, del Departamento de Chimaltenango.

7.1.2. Finca "La Colina", municipio de San Vicente Pacaya, del departamento de Escuintla

7.2. LUGAR DE TRABAJO EN EL LABORATORIO

Laboratorio de Investigación Científica, "Dr. Isao Tada", del Programa de Cooperación Técnica Guatemala-Japón para la Erradicación de la Enfermedad de Robles, Onchocercosis. La que está adscrita al Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria, (SNEM) del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

7.3. METODOLOGIA DE COLECTA DE SIMULIDOS

En el lugar de trabajo en el campo, se utilizó dos voluntarios humanos permanentes, quienes actuaron como cebos para atraer a los moscos.

Uno de los voluntarios estaba infectado con oncocercosis, lo que fue determinado por una biopsia.

El otro voluntario estaba sano, determinado también por una biopsia de piel, ya que sirvió como control.

Conociendo que este simúlido prefiere las zonas bajas del cuerpo para chupar sangre y que la infección siempre es mayor en las partes altas, a los voluntarios se les quitó la camisa y se colocaron sentados a ras del suelo, lo que permitió que los Simúlidos se alimentaran de su sangre, y parcialmente ingurgitados fueron capturados.

Esta captura de Simúlidos se hizo en tubos individuales de 45 mm. de largo por 12 mm. de diámetro, los cuales tienen en su interior adherido a sus paredes, papel filtro para que las moscas tengan un espacio de movimiento no liso y controlar un tanto la humedad dentro de este tubo.

7.4. FORMA DE TRASLADO AL LABORATORIO

Ya capturados estos moscos se colocaron en cajas de plástico, las que fueron envueltas en toallas de algodón húmedas y dentro de bolsas de polietileno, cerradas con ligas de hule. En conjunto se transportaron en hieleras al laboratorio, lo más inmóviles posible.

7.5 METODO DE CULTIVO Y ALIMENTACION

En el laboratorio los moscos se mantuvieron en sus respectivos tubos plásticos, tal como fueron trasladados del campo.

Se sacaron de las hieleras y se revisó la sobrevivencia del traslado del campo al laboratorio, y siempre cubiertos con toallas húmedas fueron colocados en incubadoras a temperatura constante.

Las temperaturas que se trabajaron en el presente experimento fueron: 14, 18, 22, 24, 28 y 30°C, usándose inicialmente una temperatura, ya que por la experiencia con S. ochraceum; a temperaturas bajas, la sobrevivencia es mayor.

En cada tubo de cultivo se colocó una bola pequeña de algodón impregnado con solución saturada de azúcar, el que fue cambiado cada semana.

Se colocó las cajas con los tubos en la incubadora, en posición inclinada de manera que los moscos tuvieran menos problemas de movimiento dentro del tubo para llegar al alimento.

En cada incubadora se colocó tres grupos de insectos de la siguiente manera:

- a) Grupo control del voluntario sano, para sobrevivencia con 60 moscos como mínimo.
- b) Grupo para controlar sobrevivencia del paciente oncocercoso, con 60 moscos como mínimo.
- c) Grupo para controlar el desarrollo de la larva de Onchocerca volvulus, del paciente oncocercoso con 60 moscos como mínimo.

7.6. METODOLOGIA DE CONTROL

Cada 24 horas se revisó las moscas para control de sobrevivencia y el desarrollo de O. volvulus.

Se sacó las moscas que morían y se registró la sobrevivencia en boletas especiales que se elaboraron para el efecto.

Se leyó el máximo y mínimo de temperatura cada 24 horas dentro de la incubadora, para controlar las variaciones de temperatura que pudo ocurrir.

Se revisó las toallas con que se envolvieron las cajas donde estaban las moscas, controlando siempre que estuvieran suficientemente húmedas.

7.7. METODOLOGIA DE DISECCION

Las disecciones se hicieron utilizando estiletes entomológicos bajo el microscopio estereoscópico.

Se disectaron las moscas que morían en la incubadora y otras vivas que fueron adormecidas, colocándolas en un congelador a bajas temperaturas; por unos pocos minutos.

Las moscas a disectar se colocaron en portaobjetos con tres gotas separadas de solución salina al 0.9%

Se separó la cabeza, tórax y abdomen y se disectó cada parte individualmente en el mismo portaobjetos.

Se hizo tres grupos de disección de la siguiente manera:

- a) Las moscas que murieron y que fueron alimentadas del voluntario sano, para revisar Infección Natural.
- b) Las moscas que murieron del control de sobrevivencia del paciente oncocercoso.
- c) Un tercer grupo que se disectó para controlar el desarrollo de O. volvulus, que fue entre 6 a 10 individuos por día. Este control de desarrollo de O. volvulus se llevó registrado en boletas especiales.

7.8. RECURSOS Y MEDIOS

En el presente trabajo de investigación fue necesario lo siguiente:

7.8.1. Recursos Humanos:

Dos voluntarios humanos para cebos.
 Dos ayudantes para coleccionar moscos.
 Un chofer.

7.8.2. Medios de Colecta:

500 tubos plásticos de 45 mm. de largo por 12 mm. de diámetro.
 500 tapaderas de plástico de 12 mm. de diámetro.
 500 gasas de 4 cms. por lado.
 6 cajas plásticas.
 6 toallas.
 25 bolsas plásticas de 10 libras.
 100 bolsas plásticas de media libra.
 2 hieleras grandes con hielo.
 25 ligas de hule.

7.8.3. Medios de Cultivo:

2 incubadoras
 2 termómetros de máxima y mínima.
 algodón
 azúcar.
 agua destilada
 autoclave
 papel filtro
 guillotina
 frascos de vidrio

7.8.4. Medios de Disección:

1 microscopio estereoscópico
 1 microscopio compuesto
 1 microscopio con cámara incorporada

6 estiletes entomológicos
2 pinzas finas
porta y cubreobjetos
agua en concentración salina al 0.9%

7.8.5. Medios de transporte:

1 vehículo de doble transmisión para 6 personas.

8.

RESULTADOS Y DISCUSION

8.1. CLASIFICACION DE LOS ESTADIOS DEL DESARROLLO DE LA LARVA DE O. VOLVULUS EN SIMULIUM METALLICUM

La Gráfica No. 1, presenta las "Fases evolutivas de la larva de O. volvulus en Simulium metallicum". Que se preparó como una modificación de la que hace Ramírez-Pérez en su "Estudio sobre la Morfología de Simulium metallicum, Vector de la Oncocercosis Humana en Venezuela".

En el presente trabajo experimental, para clasificar las fases y los estadios con relación a los cambios que ocurren en las filarias dentro de los músculos torácicos del mosquito, se hizo de la siguiente manera.

- a) Se utilizó letras mayúsculas para identificar las distintas fases en desarrollo, de la A a la I.
- b) Se dividió en tres estadios bien definidos que son:

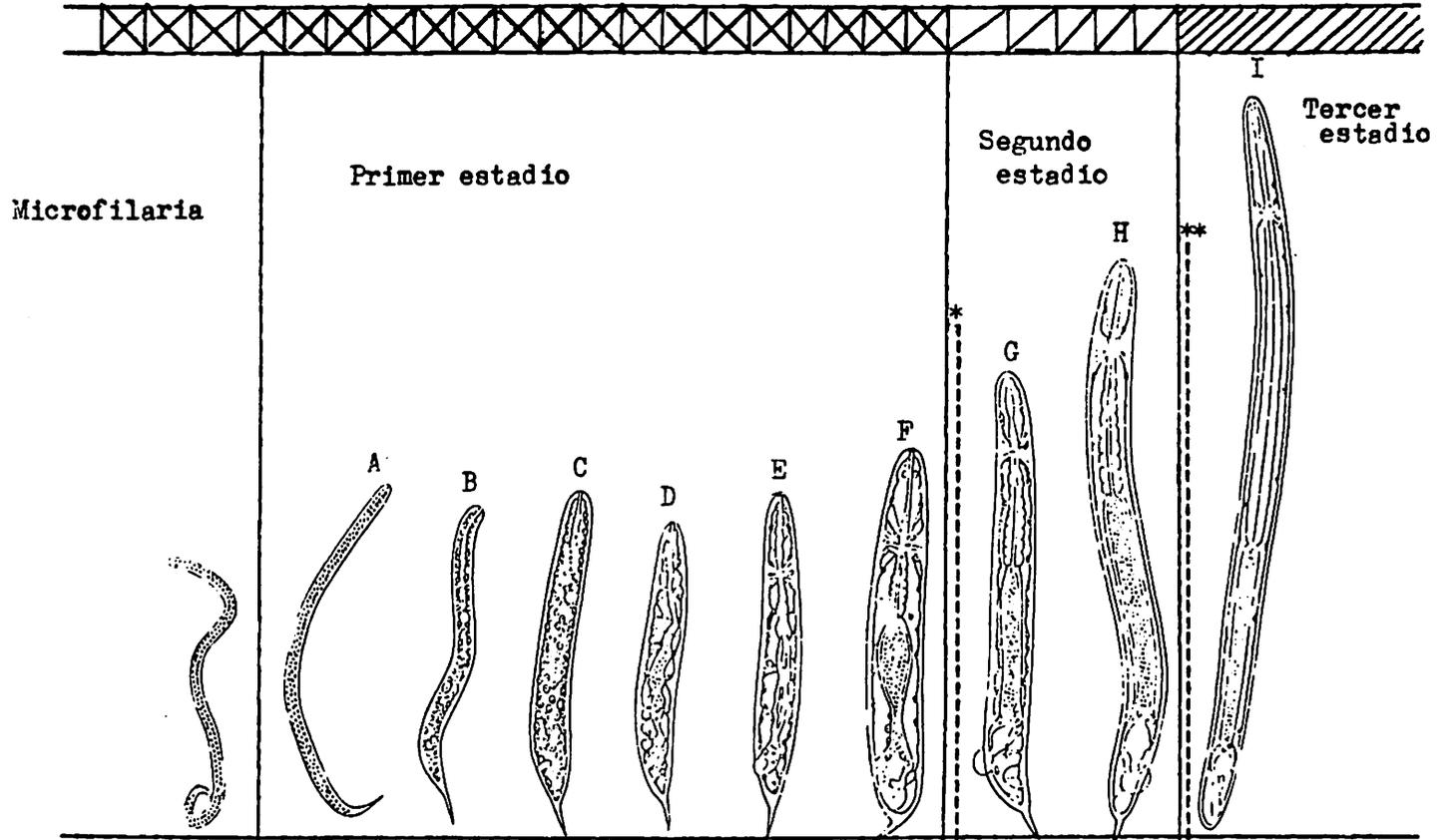
Primer Estadio: Para las fases A, B, C, D, E y F.

Que se inicia cuando la microfilaria está en el tórax del simúlido, luego se acorta y se engruesa hasta llegar a tener la forma de salchicha, en donde la larva presenta ya el tracto digestivo visible.

Segundo Estadio: Que se inicia seguido de la primera muda o primer cambio de cutícula que ocurre entre las fases F y G. Lo que da lugar a la pérdida de la forma de salchicha por un alargamiento mayor de la larva y en donde se observa una mejor diferenciación de las distintas regiones del tubo digestivo, correspondiendo a las fases G y H. Considerándose la fase H como larva Pre-Infectiva.

Tercer Estadio: Que se forma cuando en la larva Pre Infectiva ocurre una segunda muda, hay una pérdida de la cola, sobresale el poro anal y un alargamiento mayor. Y cuando la larva en tercer estadio pasa a la la cabeza se considera como metacíclica o larva Infectiva.

Fases evolutivas de la larva de
Onchocerca volvulus en Simulium metallicum.



* = Primera muda.

** = Segunda muda.

H = Larva Preinfectiva.

I = Larva Infectiva.

Modificado de Ramírez y Perez.
de Venezuela.

8.2. MORTALIDAD DE S. METALLICUM INGURGITADO CON SANGRE HUMANA AL SER TRAS- LADADO HACIA EL LABORATORIO

La Tabla No. 1 indica el porcentaje de mortalidad en S. metallicum al ser transportado de la finca "Buena Vista", del municipio de Acatenango, en el departamento de Chimaltenango; hacia el laboratorio "Dr. Isao Tada" en la ciudad capital. Tomando en cuenta que los moscos capturados fueron ingurgitados con sangre de voluntarios humanos con y sin microfilarias en la piel.

En la tabla No. 2 se muestra el porcentaje de mortalidad en S. metallicum al ser transportado de la finca "La Colina", del municipio de San Vicente Pacaya, en el departamento de Escuintla, hacia el laboratorio situado en la ciudad capital.

Por encontrar poca densidad de moscos de S. metallicum en las distintas regiones posibles de estudio, se decidió por tomar como zona de trabajo en el campo a la finca "Buena Vista", en Chimaltenango. A donde para llegar hay que utilizar parte de carretera asfaltada hasta Patzicía y la otra parte en carretera de terracería hasta la finca. Luego bajó la densidad de moscos por aplicación de larvicida, lo que dificultó seguir el trabajo de captura allí.

Seguidamente se tomó como área de trabajo, la finca "La Colina", de San Vicente Pacaya, en Escuintla, situada mucho más cerca del laboratorio y con mejor camino que la finca anterior.

Esto sirvió para observar en las dos experiencias que el porcentaje de mortalidad fue bastante bajo al ser trasladados los moscos del lugar de captura al laboratorio; probablemente por la técnica de traslado que se usó. Esta consistió en traer los tubos que contenían a los moscos a manera que quedaran acostados y evitando su movilidad dentro de las hieleras en que fueron colocados.

Como se puede ver en las tablas 1 y 2, los moscos alimentados con sangre del voluntario sin microfilarias en la piel presentan menor porcentaje de mortalidad que los moscos ingurgitados con sangre del voluntario con microfilarias en la piel, aún en el recorrido de las dos fincas al laboratorio; con las dos distancias diferentes.

TABLA No. 1

Porcentaje de mortalidad de S. metallicum ingugitado con sangre del voluntario sin microfilarias en la piel, al ser transportado de la finca "Buena Vista", en Acatenango, de Chimaltenango a la ciudad capital.

No. DE COLECTA	No. DE MOSCOS COLECTADOS	No. DE MOSCOS MUERTOS	% DE MORTALIDAD
1	60	0	0
2	50	1	2
3	51	0	0
4	60	0	0

Porcentaje de mortalidad en S. metallicum ingurgitado con sangre del voluntario con microfilarias en la piel, al ser transportado de la finca "Buena Vista", en Acatenango, de Chimaltenango al laboratorio en la ciudad capital

No. DE COLECTA	No. DE MOSCOS COLECTADOS	No. DE MOSCOS MUERTOS	% DE MORTALIDAD
1	59	1	1.7
2	67	33	49.0
3	72	6	8.3
4	59	1	1.7

TABLA No. 2

Porcentaje de mortalidad en S. metallicum ingurgitado con sangre del voluntario sin microfilarias en la piel, al ser transportado de la finca "La Colina", de San Vicente Pacaya, en Escuintla a la ciudad Capital.

No. DE COLECTA	No. DE MOSCOS COLECTADOS	No. DE MOSCOS MUERTOS	% DE MORTALIDAD
1	119	0	0
2	50	1	2
3	121	1	0.8
4	51	1	1.9
5	119	2	1.6

Porcentaje de mortalidad en S. metallicum ingurgitado con sangre del voluntario con microfilarias en la piel, al ser transportado de la Finca "La Colina", de San Vicente Pacaya, en Escuintla a la ciudad capital.

No. DE COLECTA	No. DE MOSCOS COLECTADOS	No. DE MOSCOS MUERTOS	% DE MORTALIDAD
1	169	27	15.9
2	62	3	4.8
3	105	6	5.7
4	62	4	6.4
5	89	7	7.8

8.3. SOBREVIVENCIA DE S. METALLICUM EN EL LABORATORIO DESPUES DE ALIMENTADOS CON SANGRE DE VOLUNTARIOS CON Y SIN MICROFILARIAS (mf) EN LA PIEL

Las gráficas 2, 3 y 4 muestran la sobrevivencia de los moscos a nivel de laboratorio, los que fueron incubados a seis temperaturas y que son: 14, 18, 22, 24, 28 y 30°C.

Se encontró en el presente experimento que a menor temperatura, la sobrevivencia es mayor y conforme ésta va aumentando, la sobrevivencia va bajando.

Por lo que la temperatura afecta directamente en la sobrevivencia de S. metallicum en condiciones de laboratorio.

Nótese que en los primeros días de cultivo se presenta el mayor grado de mortalidad.

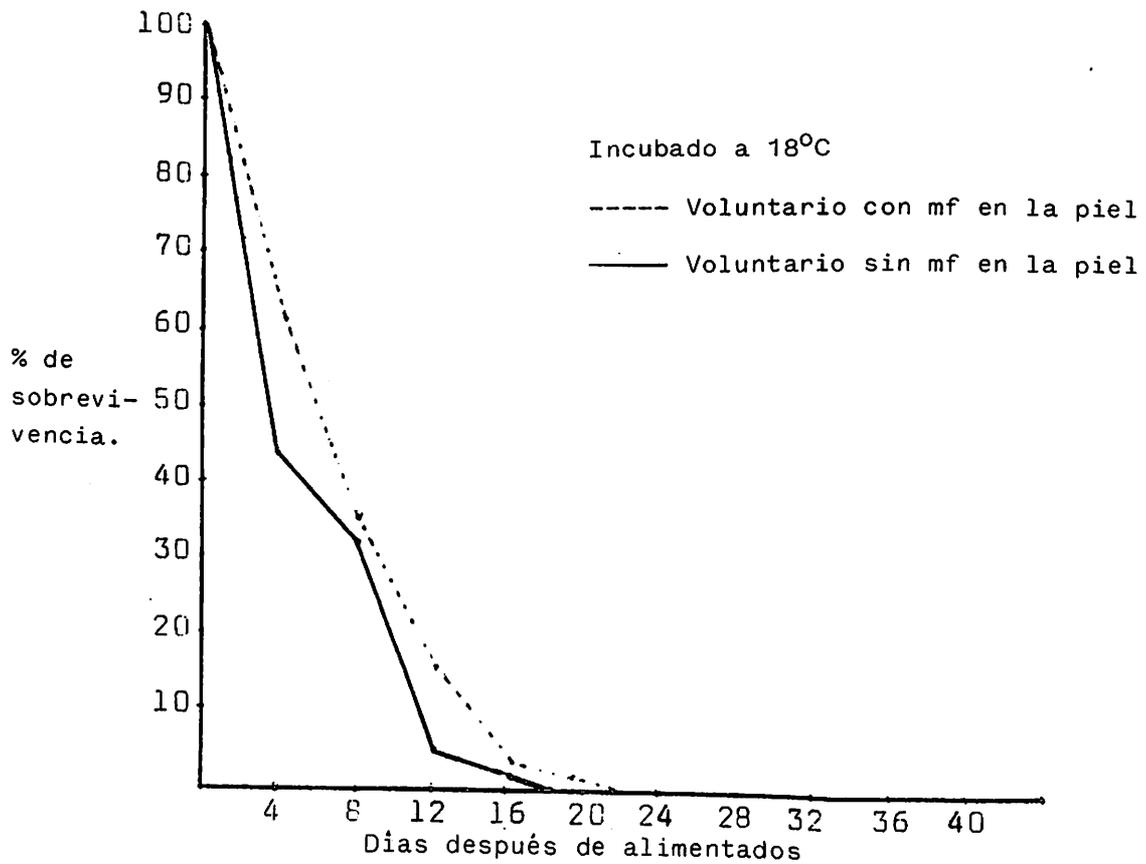
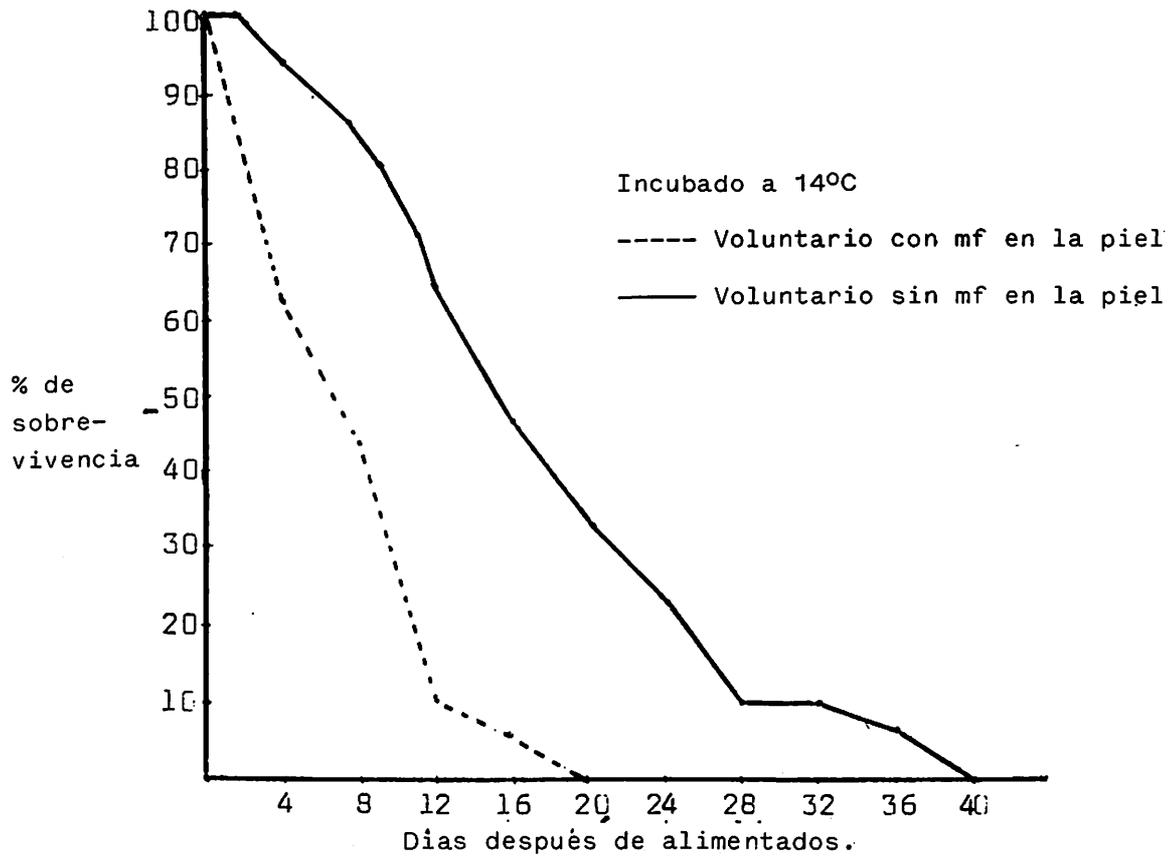
A los 14°C la sobrevivencia es alta, mientras que a 30°C la sobrevivencia es muy baja siendo letal a 34°C ya que las moscas mueren antes de 24 horas.

Posiblemente en el campo en la época seca, los Simúlidos adultos tengan un cortociclo de vida más o menos entre los meses de febrero a mayo, el cual se alarga en la época lluvia y que podía ser entre agosto a enero.

Además es importante mencionar la influencia para la sobrevivencia, que presentan los moscos alimentados con sangre del voluntario con microfilarias en la piel. Ya que las gráficas muestran mayor sobrevivencia para las moscas que se alimentaron con sangre del voluntario sin microfilarias en la piel.

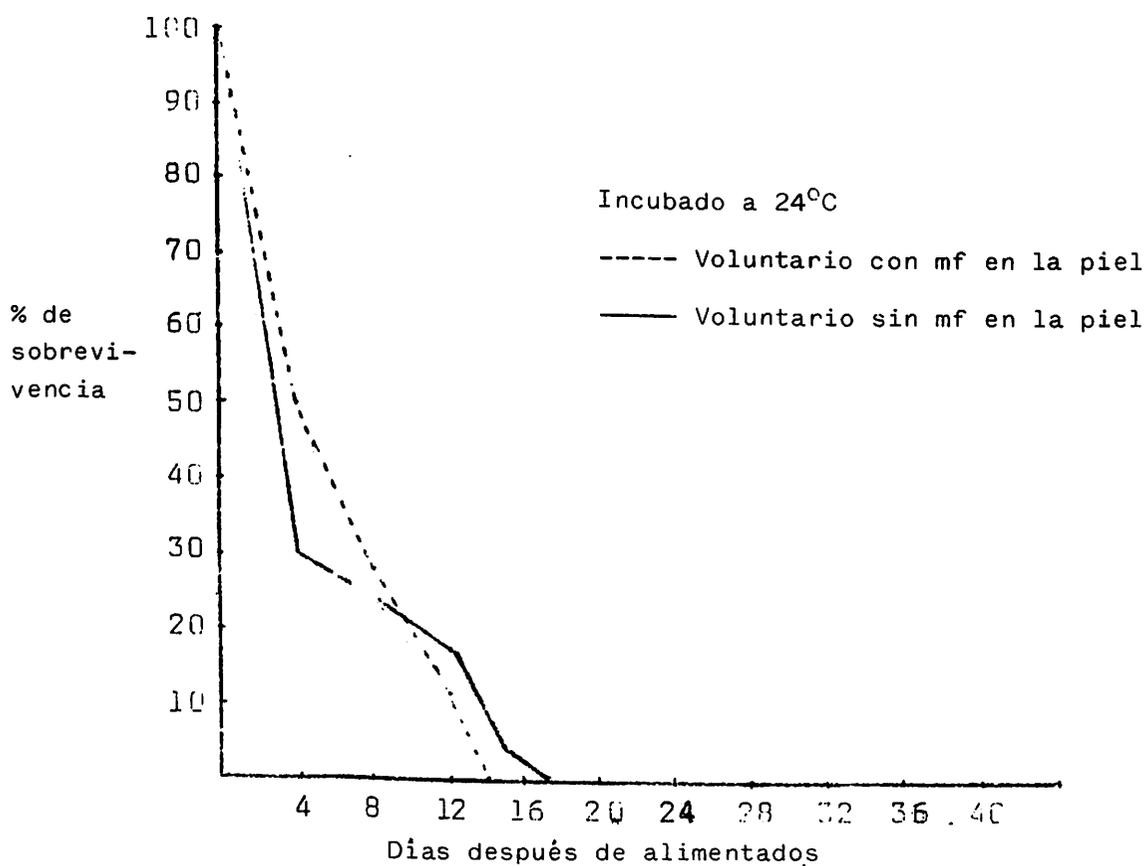
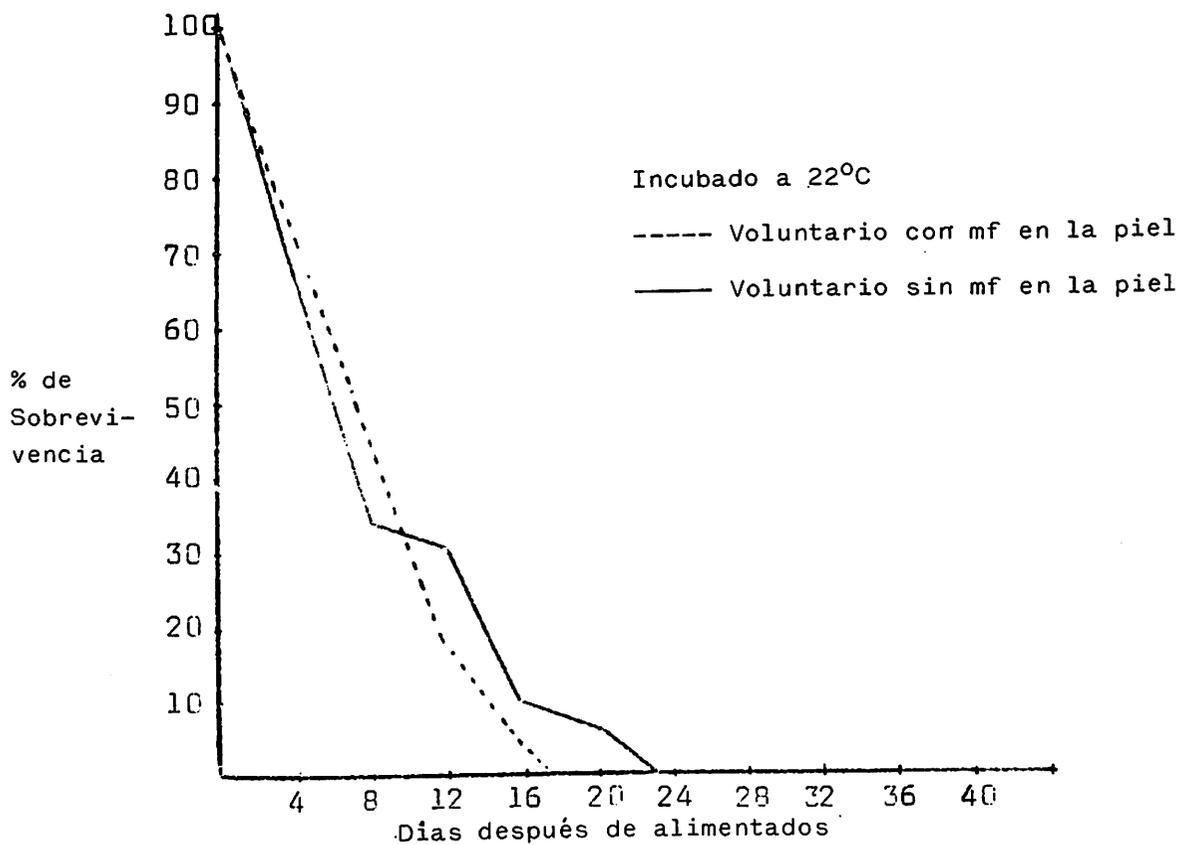
GRAFICA No. 2

Sobrevivencia de S. metallicum en condiciones de laboratorio, después de alimentados con sangre humana



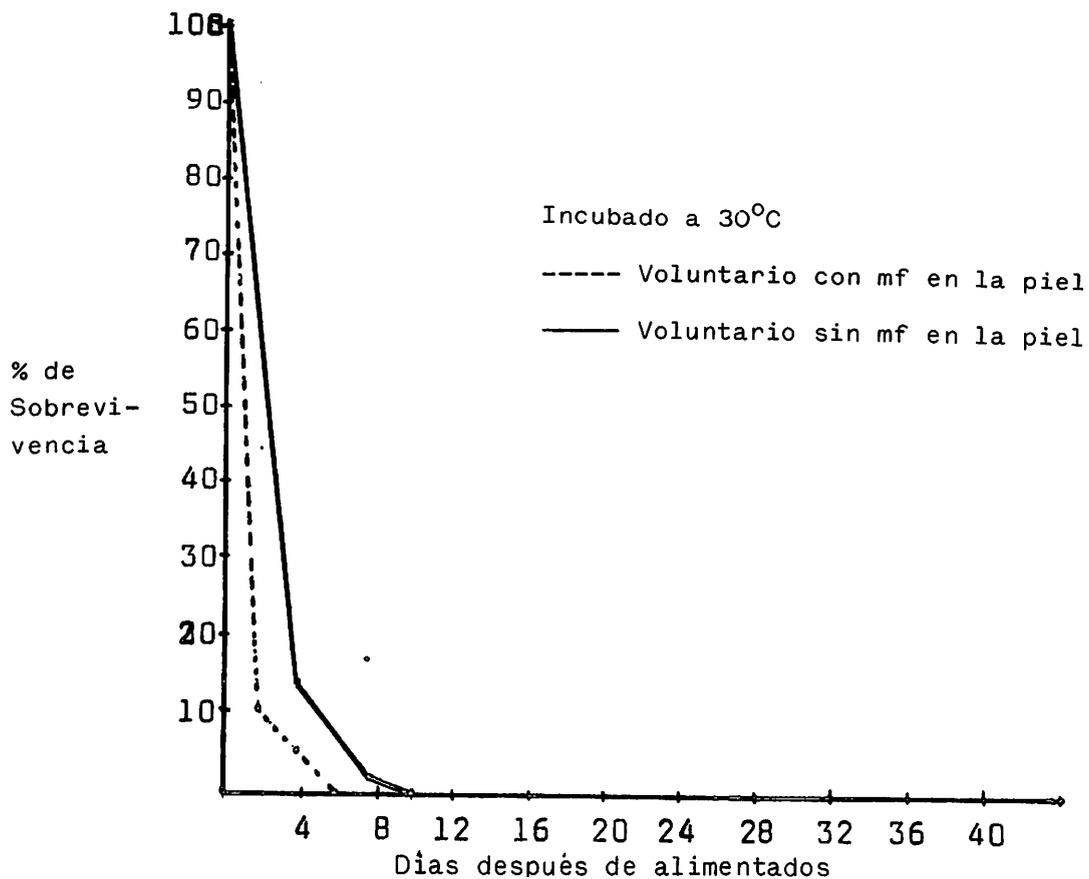
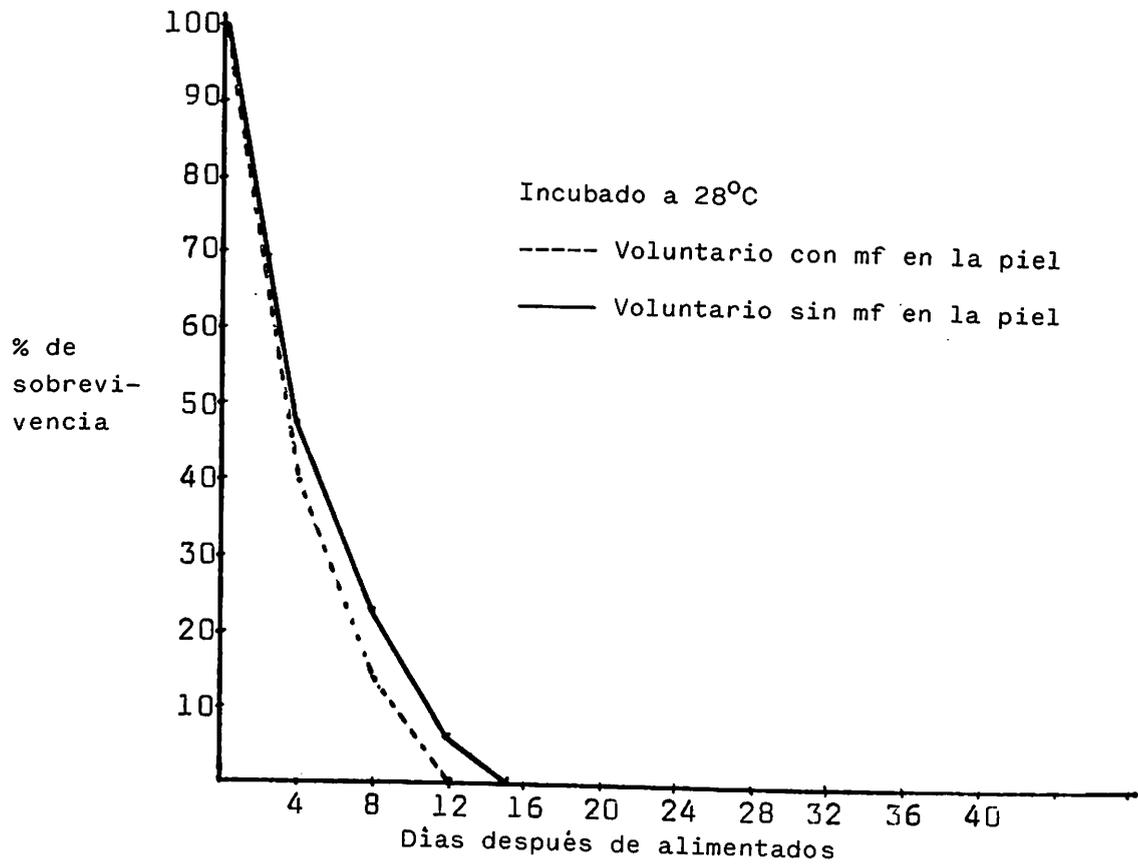
GRAFICA No. 3

Sobrevivencia de S. metallicum en condiciones de laboratorio, después de alimentados con sangre humana.



GRAFICA No. 4

Sobrevivencia de S. metallicum en condiciones de laboratorio, después de alimentados con sangre humana.



8.4. RELACION ENTRE EL MAXIMO DE SOBREVIVENCIA DE S. METALLICUM DESPUES DE ALIMENTADO CON SANGRE HUMANA, CON RESPECTO A LA TEMPERATURA DE CULTIVO, EN CONDICIONES DE LABORATORIO:

En la gráfica No. 5 se muestra la relación entre el máximo de sobrevivencia de S. metallicum en condiciones de laboratorio, ingurgitado con sangre de voluntarios con y sin microfilarias en la piel y la temperatura de cultivo.

En el anexo No. 1 se presenta el desarrollo para las fórmulas de cálculo en el coeficiente de correlación, recta de regresión y de distribución "F".

Como se observa en la gráfica, ocurre una relación directa entre la sobrevivencia y la temperatura de cultivo tanto en la mosca que se alimentó del voluntario con microfilarias en la piel, como en la que se alimentó con sangre sin microfilarias, datos que coinciden como en 8.3.

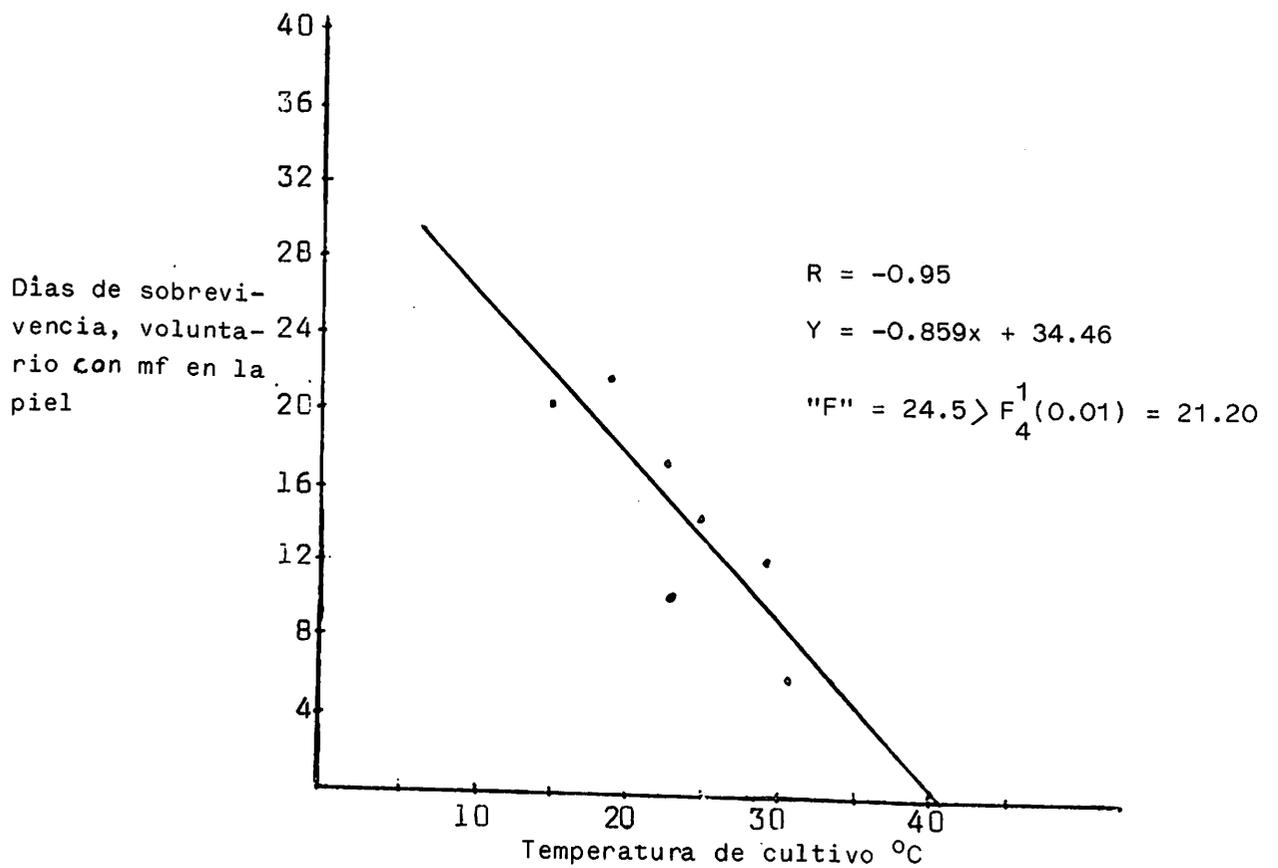
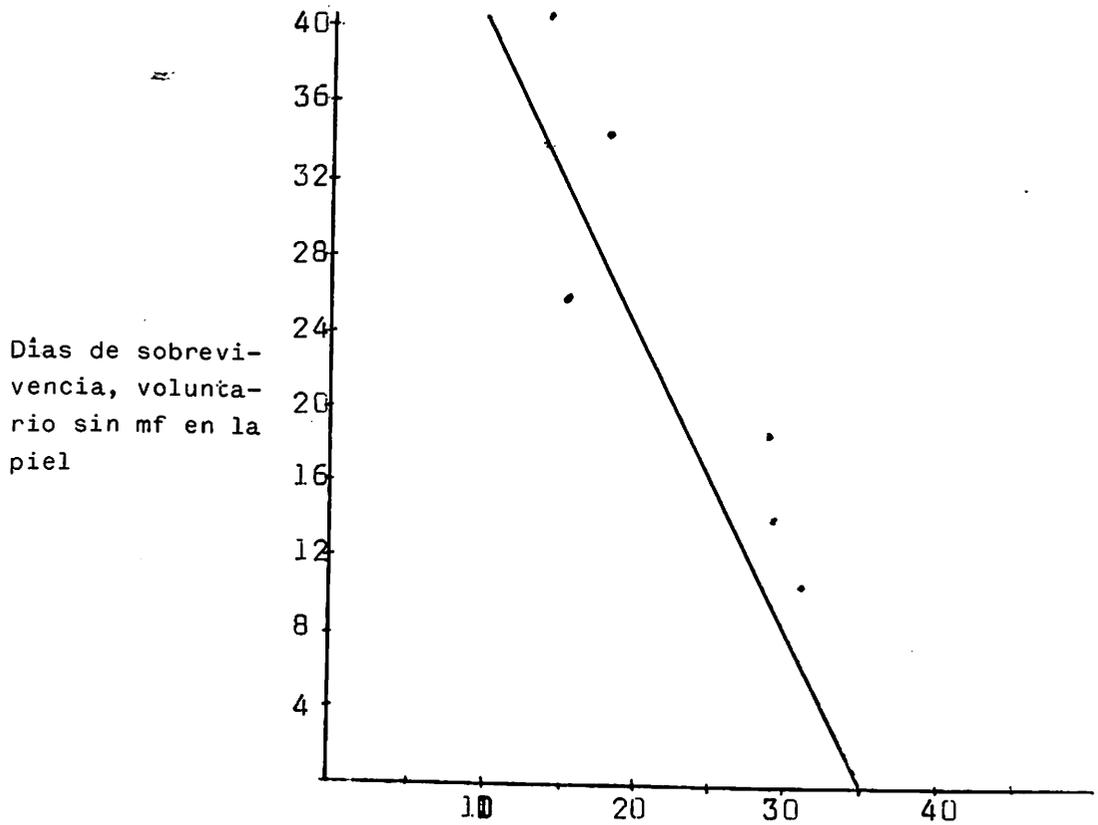
Con respecto al voluntario con mf en la piel, al calcular el coeficiente de correlación, nos conduce a concluir que el grado de correlación es casi perfecta de -0.95 , ya que se acerca a -1 . Pero sus variables tienen sentido opuesto, o sea que cuando una aumenta, la otra disminuye.

Para la recta de regresión en la cual se relaciona el máximo de sobrevivencia = Y, con la temperatura de cultivo = X. Nos indica que la dispersión de los puntos para esa recta es de: $Y = -0.859x + 34.46$.

En el cálculo de la distribución "F" para la muestra, se encontró que ésta no debe ser rechazada a un nivel de significación de 0.01 .

GRAFICA No. 5

Relación entre el máximo de sobrevivencia de S. metallicum, ingerido con sangre de voluntarios con y sin microfilarias (mf) en la piel, y la temperatura de cultivo.



8.5. APARECIMIENTO DE LOS ESTADIOS DE DESARROLLO DE LA LARVA DE *O. VOLVULUS* EN *S. METALLICUM*, A DIFERENTES TEMPERATURAS:

La gráfica No. 6 muestra los distintos estadios de desarrollo que presenta la larva de *Onchocerca volvulus* en *S. metallicum* en diferentes temperaturas, a nivel de laboratorio.

En la serie de fotografías, se muestra una secuencia de los distintos estadios que fueron encontrados en el desarrollo de *O. volvulus* en *S. metallicum*, incubados en el laboratorio.

A 14°C de incubación no pasa del primer estadio, lo que se pudo observar aún en el último día de cultivo. Este primer estadio apareció hacia el sexto día cultivo.

A 18°C parece ser la temperatura crítica para el desarrollo de *O. volvulus* en *S. metallicum* a nivel de laboratorio, ya que ocurre el desarrollo completo hasta larvas del tercer estadio.

En 22, 24 y 28°C el desarrollo es más apresurado, ya que a mayor temperatura, menor es el tiempo que se requiere para el completo desarrollo de las larvas.

A 30°C el desarrollo es muy acelerado ya que se encuentra larvas del tercer estadio al cuarto día.

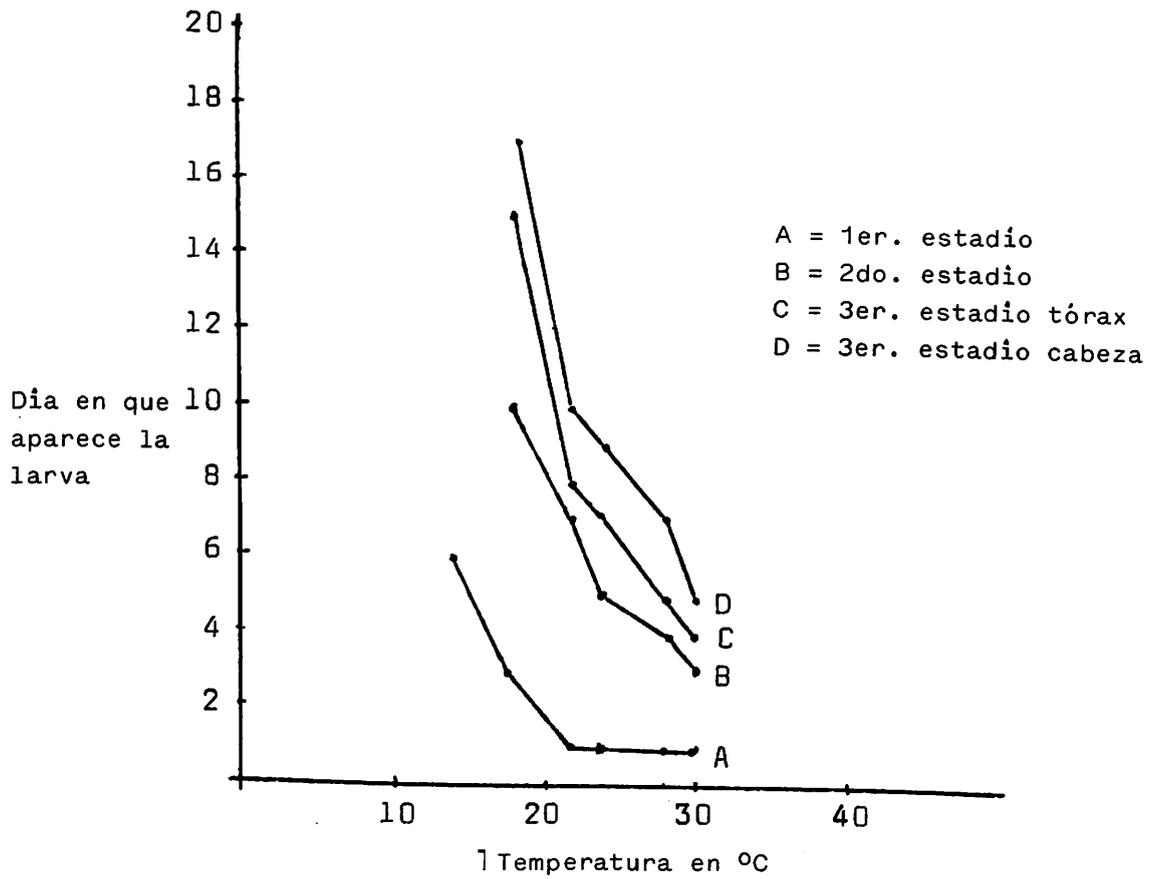
A 34°C los moscos mueren en menos de 24 horas. Esto da un rango de temperatura para el desarrollo de *O. volvulus* hasta tercer estadio en *S. metallicum*, entre 18 a 30°C.

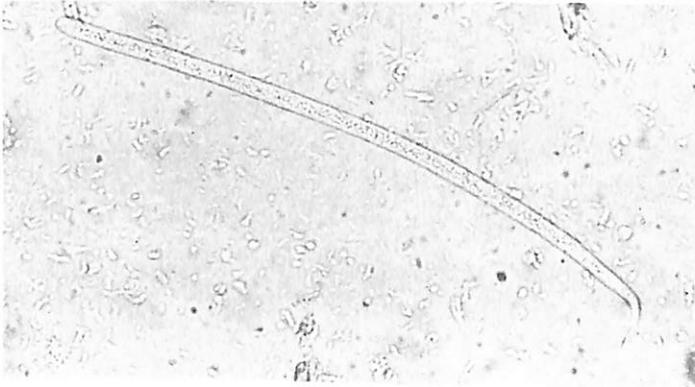
Es característico en *S. metallicum* que el desarrollo de *O. volvulus*, es un tanto desordenado, ya que muchas veces se encuentra larvas del primer estadio donde ya hay del tercer estadio y aún microfilarias.

A 28°C el desarrollo de las larvas es más sincronizado, o sea más ordenado.

GRAFICA No. 6

Aparecimiento de los distintos estadios de la larva de O. volvulus en S. metallicum, a diferentes temperaturas después de ingurgitados con sangre de un voluntario con microfilarias en la piel.

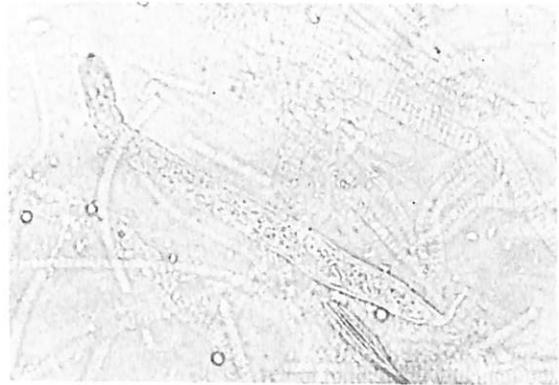


SERIE DE FOTOGRAFIAS No. 1F. No. 1

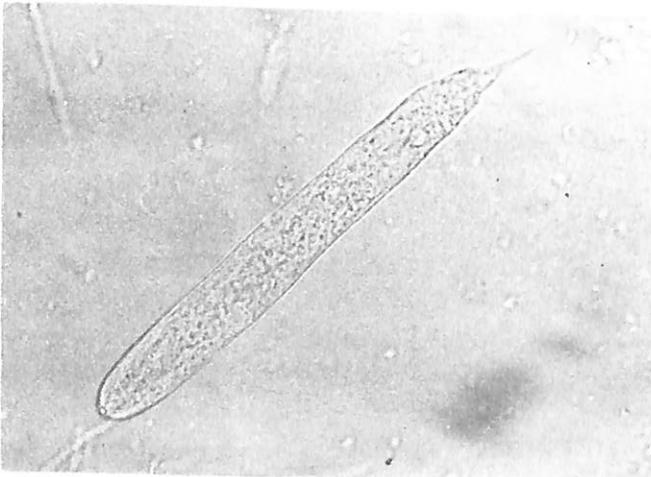
Microfilaria.
 A 24 horas de cultivo
 Localizada en abdomen
 Aumento = 200x.
 A 30°C de incubación

F. No. 2

Larva en Primer Estadio
 A 9 días de cultivo
 Localizada en tórax
 Aumento = 200x.
 A 18°C de incubación

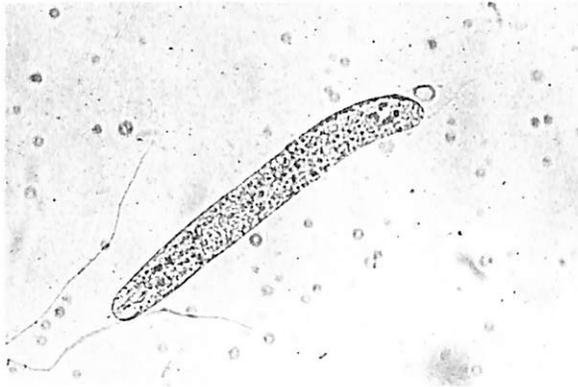
F. No. 3

Larva de Primer Estadio
 A 6 días de cultivo
 Localizada en tórax
 Aumento = 200x.
 A 18°C de incubación

F. No. 4

Larva de Primer Estadio
 A 5 días de cultivo
 Localizada en tórax
 Aumento = 200x.
 A 22°C de incubación



SERIE DE FOTOGRAFÍAS No. 1F. No. 5

Larva en Primer Estadio
Primera Muda

A 5 días de cultivo

Localizada en tórax

Aumento = 100x.

A 28°C de incubación

F No. 6

Larva en Segundo Estadio

A 5 días de cultivo

Localizada en tórax

Aumento = 100x.

A 28°C de incubación

F. No. 7

Larva en Segundo Estadio

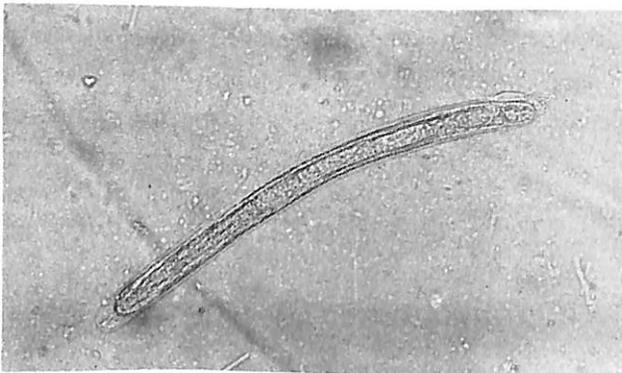
A 4 días de cultivo

Segunda Muda

Localizada en tórax

Aumento = 100x.

A 30°C de incubación

F. No. 8

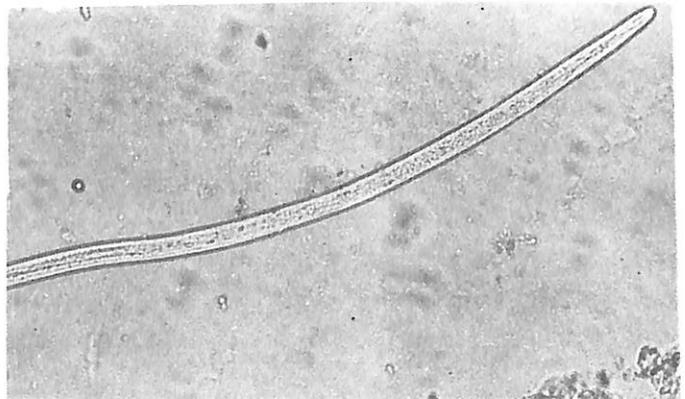
Larva en Tercer Estadio

A 11 días de cultivo

Localizada en abdomen

Aumento = 100x.

A 24°C de incubación



8.6. RELACION ENTRE LA VELOCIDAD DE DESARROLLO DE LA LARVA DE O. VOLVULUS EN EN S. METALLICUM Y LA TEMPERATURA DE CULTIVO

La gráfica No. 7 muestra la correlación entre el día y 1/día en que aparece la larva infectiva de O. volvulus en la cabeza de S. metallicum con las temperaturas de cultivo.

En el anexo No. 2 se detallan las fórmulas usadas para el cálculo de la recta de regresión, coeficiente de correlación y distribución "F".

A nivel de laboratorio se observa que la temperatura afecta directamente el tiempo requerido para completar el desarrollo de O. volvulus en S. metallicum.

El coeficiente de correlación = R, para 1/día dió una correlación casi perfecta de 0.97 y sus variables tienen un mismo sentido, o sea que cuando una aumenta, la otra también.

La recta de regresión de la relación entre la velocidad de desarrollo y la temperatura de cultivo, es $Y = 0.0104 - 0.1319X$. En donde Y = al inverso del día en que aparece la larva infectiva y X = a la temperatura de cultivo.

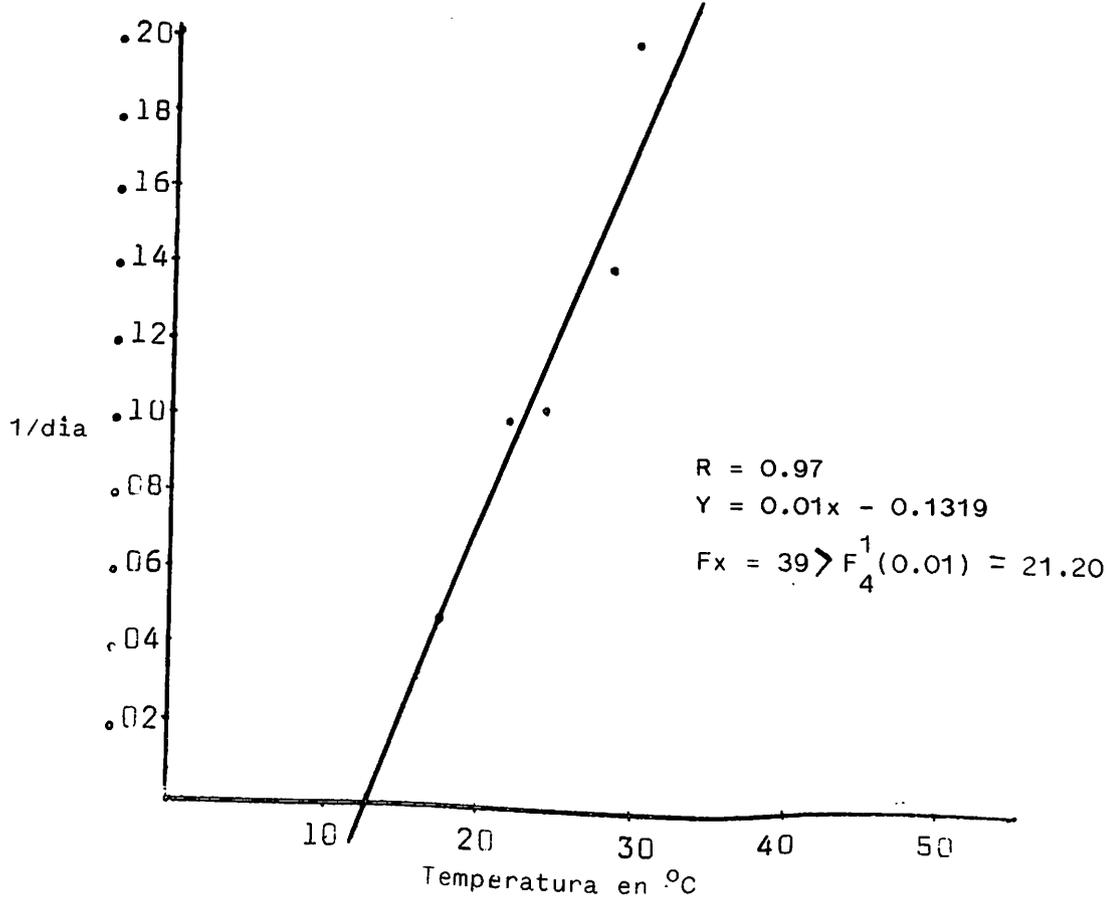
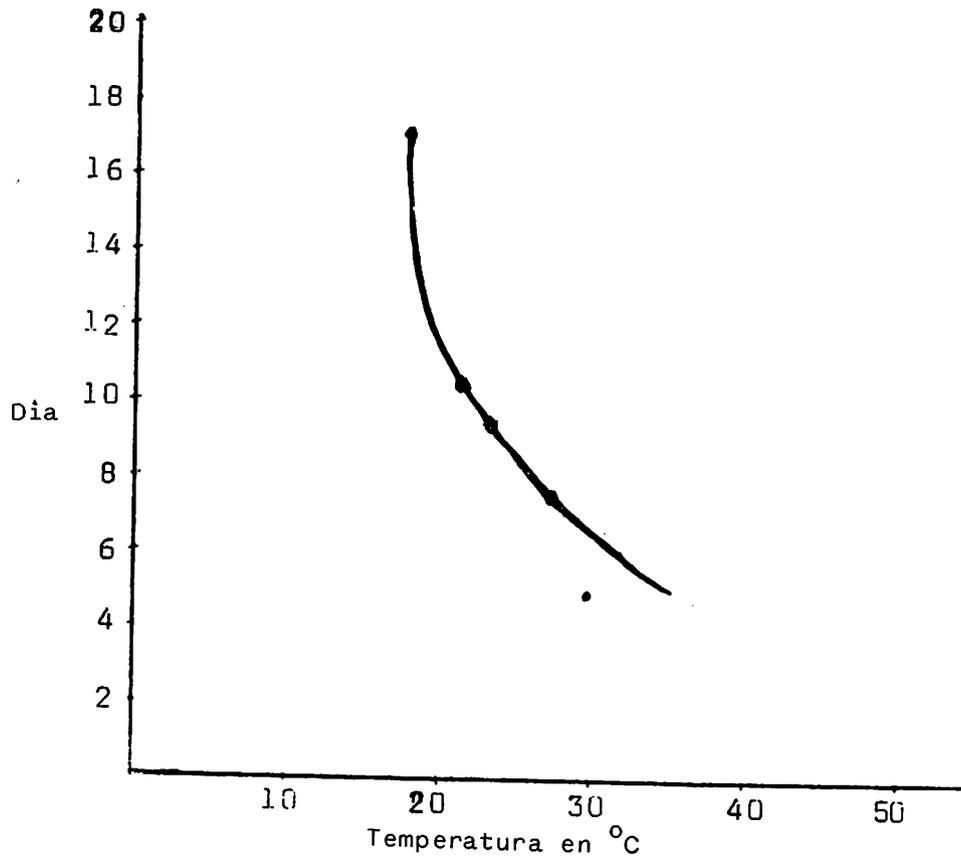
La distribución "F" en este caso nos informa que la hipótesis no debe ser rechazada a un nivel de significación de 0.01 o sea un 99% de confianza.

Se podría discutir sobre el hecho de que por un lado la sobrevivencia del mosco disminuye al aumentar la temperatura, pero a la vez el tiempo requerido para que el insecto sea infectivo es más corto.

Esto nos haría pensar que un insecto en verano transmite la Onchocercosis rápidamente antes de morir, pero en invierno cuando las temperaturas son más bajas, aunque el insecto sobrevive más también requiere mayor tiempo para ser infectivo, lo cual nos da una idea de la importancia de la temperatura para la transmisión de la Onchocerciasis.

GRAFICA No. 7

Correlación entre el Día y 1/día en que aparece la larva infectiva de O. volvulus en la cabeza de S. metallicum, con las diferentes temperaturas.



8.7. LA TEMPERATURA DE INCUBACION Y EL PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA DE S. METALLICUM AL APARECIMIENTO DE LA LARVA EN TERCER ESTADIO DE O. VOLVULUS EN TORAX Y CABEZA

En la tabla No. 3, se señala la temperatura de cultivo y el porcentaje de sobrevivencia de S. metallicum al aparecimiento de la larva en tercer estadio, a nivel de tórax y cabeza.

A nivel de laboratorio se encontró que existe un mayor porcentaje de sobrevivencia de S. metallicum a 22, 24 y 28°C, con respecto al aparecimiento de la larva infectiva en la cabeza.

También se observa que en los extremos del rango de temperatura (18 y 30°C), el porcentaje de sobrevivencia para el aparecimiento de la larva del tercer estadio, es muy bajo tanto en tórax, como en cabeza.

Siendo a 28°C donde se dió el mayor porcentaje de sobrevivencia al día en que aparece la larva del tercer estadio a nivel del tórax.

Si discutimos parece ser que el rango de mayor sobrevivencia de la mosca "infectiva" corresponde a los rangos promedios de temperatura en las zonas endémicas de Guatemala.

TABLA No. 3

La temperatura de cultivo y el porcentaje de sobrevivencia de S. metallicum, al día en que la larva de O. volvulus en tercer estadio aparece en tórax y cabeza.

TEMP. EN °C	No. DE MOSCAS INICIALES	% DE SOBREVIVENCIA CUANDO LA LARVA APARECE EN TORAX	% DE SOBREVIVENCIA CUANDO LA LARVA APARECE EN CABEZA
14	65	----	-----
18	59	10.1	5.08
22	58	37.9	27.58
24	58	36.2	25.86
28	51	39.2	27.45
30	40	5.0	10.00
PROMEDIO		27.7	19.19

8.8. PORCENTAJE DE INFECCION DE S. METALLICUM CON LARVAS DE O. VOLVULUS Y LA TEMPERATURA DE CULTIVO

En la tabla No. 4 se muestra el porcentaje de infección con los estadios I, II y III de O. volvulus encontrados en S. metallicum, con respecto a la temperatura.

En la tabla No. 5 se indica el porcentaje de infección sólo con larvas de III estadio de O. volvulus en S. metallicum, con respecto a la temperatura.

Se ha encontrado en S. metallicum que de las moscas que se alimentan con sangre de un voluntario con mf en la piel, no todos se infectan para desarrollar larvas de O. volvulus.

Según la tabla No. 5, del total de moscas ingugitadas con sangre, se encontró un promedio de infección de 45 a 46% con larvas de los tres estadios. Con un rango entre 40 y 59% en el porcentaje de infección.

Mientras en la tabla número 6 aparece que el porcentaje de infección en los moscos con larvas del III Estadio, tomando en cuenta sólo a los moscos que aparecieron infectados, fue entre 36 a 37%.

Parece ser que la temperatura no afecta el porcentaje de infección con larvas de O. volvulus en desarrollo en S. metallicum, como puede verse en la tabla número 5, ya que en casi todas las temperaturas es muy parecido.

Se observa también que la sobrevivencia de las moscas al día en que aparece la larva infectiva, es menor en los extremos del rango de temperatura, o sea a 18 y 30°C, lo cual coincide en parte con el rango de mayor sobrevivencia del mosco, (tabla 3) de 8.7.

TABLA No. 4

Porcentaje de infección de S. metallicum con larvas de O. volvulus en I, II y III estadio, y la temperatura de cultivo.

TEMP. EN °C.	No. DE MOSCOS INICIALES	MOSCOS CON LARVAS DE I, II y III ESTADIO	% DE INFECCION
14	55	22	40.0
18	59	26	44.0
22	58	25	43.1
24	58	24	41.3
28	51	30	58.8
30	40	19	47.5
PORCENTAJE PROMEDIO			45.7

TABLA No. 5

Porcentaje de infección en S. metallicum con larvas de O. volvulus en III estadio y la temperatura de incubación.

TEMPE-RATURA EN °C	MOSCOS DISECTADOS A PARTIR DEL APA-RECIMIENTO DE III ESTADIO EN TORAX	MOSCOS DONDE SE ENCONTRÒ LARVAS DE III ESTADIO	% DE INFECCION
18	26	4	15.4
22	25	11	44.0
24	22	7	31.8
28	20	13	65.0
30	18	5	27.7
PORCENTAJE PROMEDIO			36.8

8.9. NUMERO DE LARVAS DE O. VOLVULUS ENCONTRADAS EN S. METALLICUM, HASTA LOS DOCE DIAS DESPUES DE LA ALIMENTACION CON SANGRE DE UN VOLUNTARIO CON MICROFILARIAS EN LA PIEL

La gráfica No. 8 presenta histogramas que muestran el número de microfilarias encontradas en S. metallicum los primeros tres días de alimentadas, y la temperatura de cultivo.

La gráfica No. 9 presenta histogramas que muestran el número de larvas de O. volvulus encontradas en S. metallicum del cuarto al décimo segundo día después de su ingurgitación.

El número de microfilarias encontradas en los primeros tres días de ingurgitados los S. metallicum, se encuentran en el rango de 0 a 200, o sea que la mayoría de las moscas en los primeros tres días, tienen un número menor de 199 microfilarias.

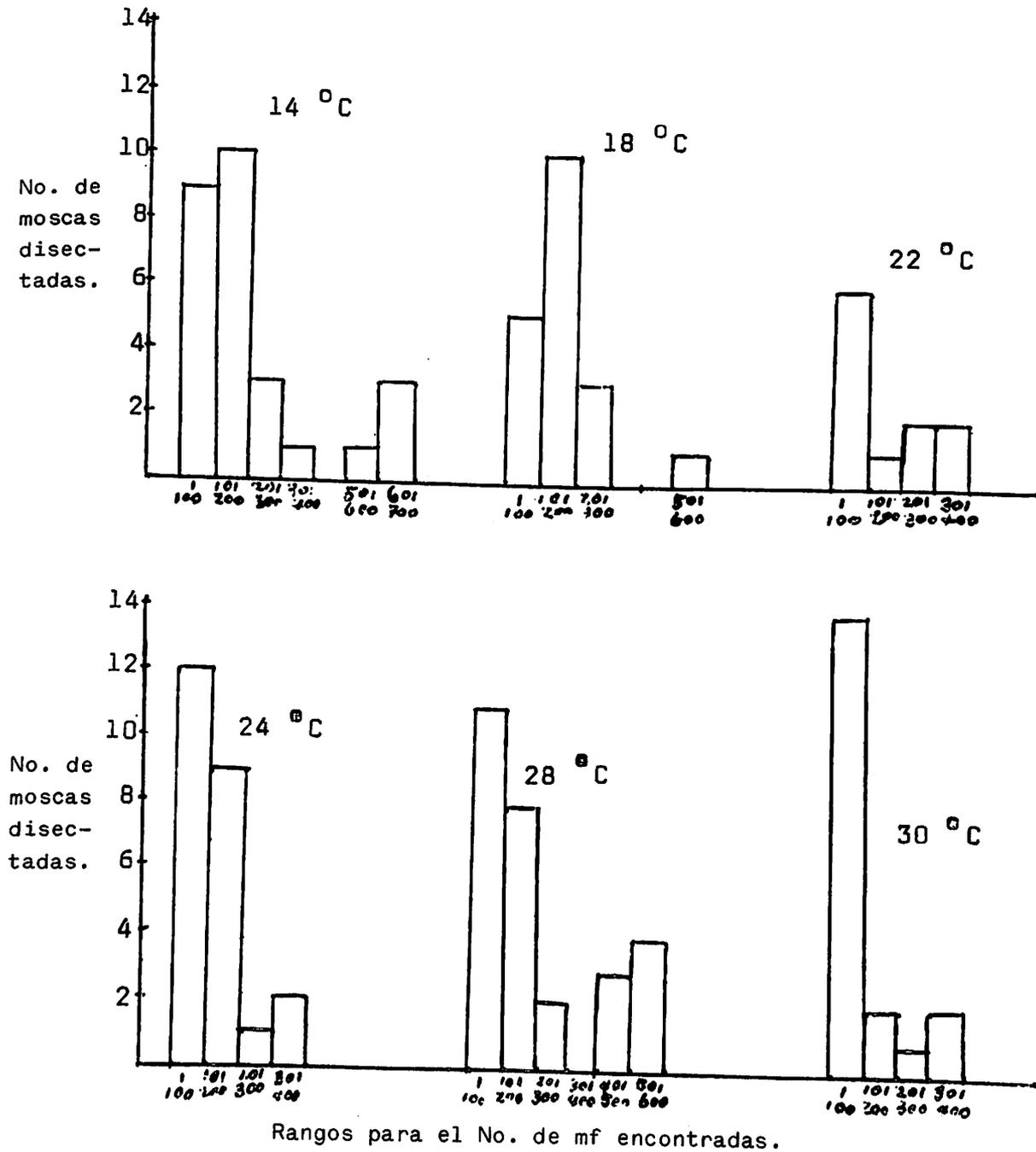
Mientras que del cuarto al décimo segundo día de cultivo, en las distintas temperaturas la mayor frecuencia corresponde a un número menor de cinco larvas de O. volvulus en desarrollo, notándose que a bajas temperaturas, las larvas son principalmente microfilarias o larvas en primer estadio.

En la mayor parte de las temperaturas se encontró rangos entre 1 a 5, hasta 31 a 35 larvas, no pasando de estas frecuencias de clases entre los tres y los doce días después de incubación.

Estos datos coinciden con los reportados para S. ochraceum por Monroy, lo cual nos indica que no hay que menospreciar la capacidad de transmisión de S. metallicum.

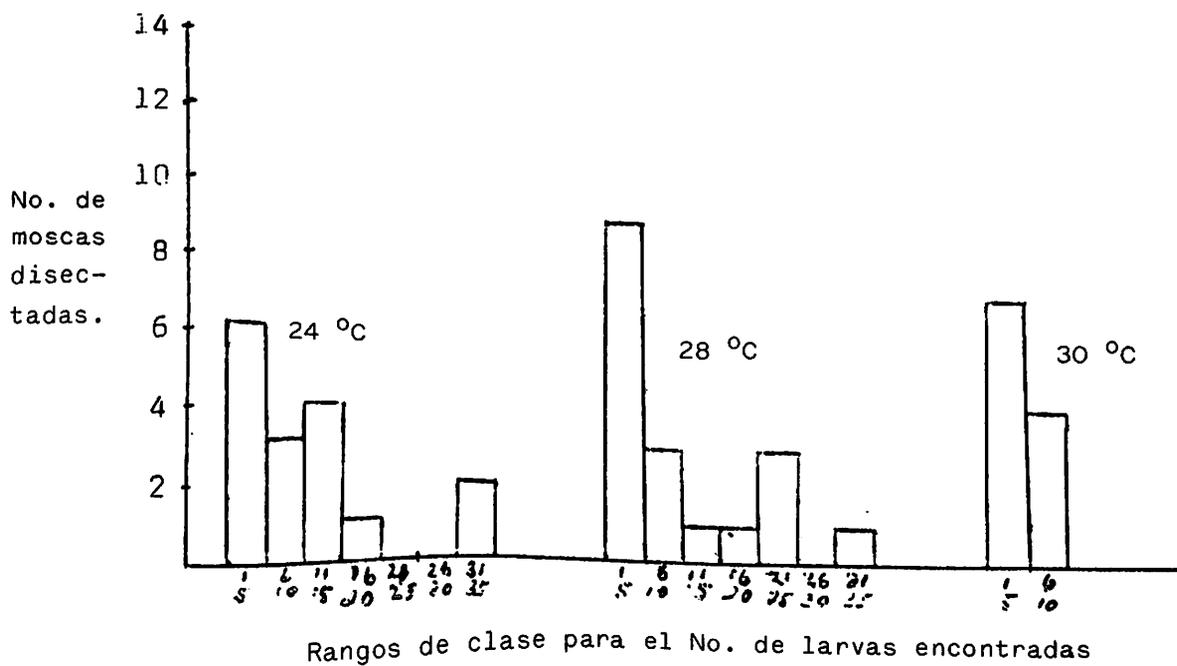
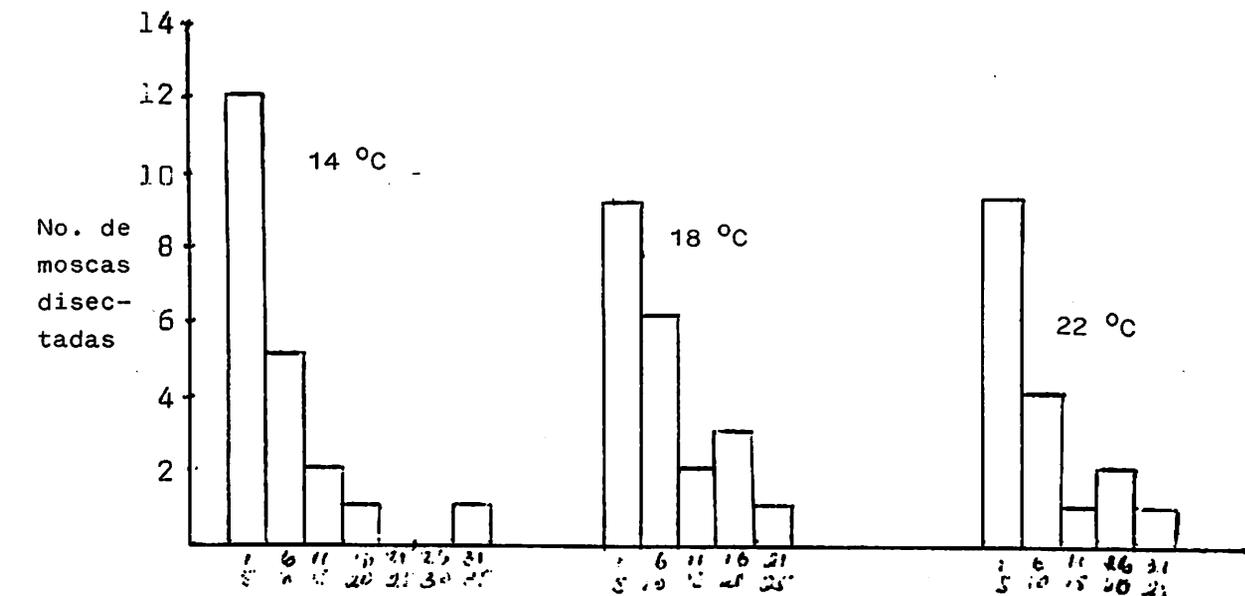
GRAFICA No. 8

Número de microfilarias de O. volvulus encontradas en S. metallicum los primeros tres días después de ingurgitados, y la temperatura de cultivo.



GRAFICA No. 9

Número de larvas de O. volvulus encontradas en S. metallicum del cuarto al décimo segundo día después de la ingurgitación y la temperatura de cultivo.



8.10. NUMERO PROMEDIO DE LARVAS INFECTIVAS DE O. VOLVULUS QUE SE LOCALIZAN EN S. METALLICUM A NIVEL DE TODO EL CUERPO Y EN LA CABEZA; CON RESPECTO A LA TEMPERATURA DE INCUBACION

En la Gráfica No. 10 se presenta el número promedio de larvas de O. volvulus del tercer estadio, que se localizan en S. metallicum a nivel de todo el cuerpo y sólo en cabeza, con respecto a la temperatura.

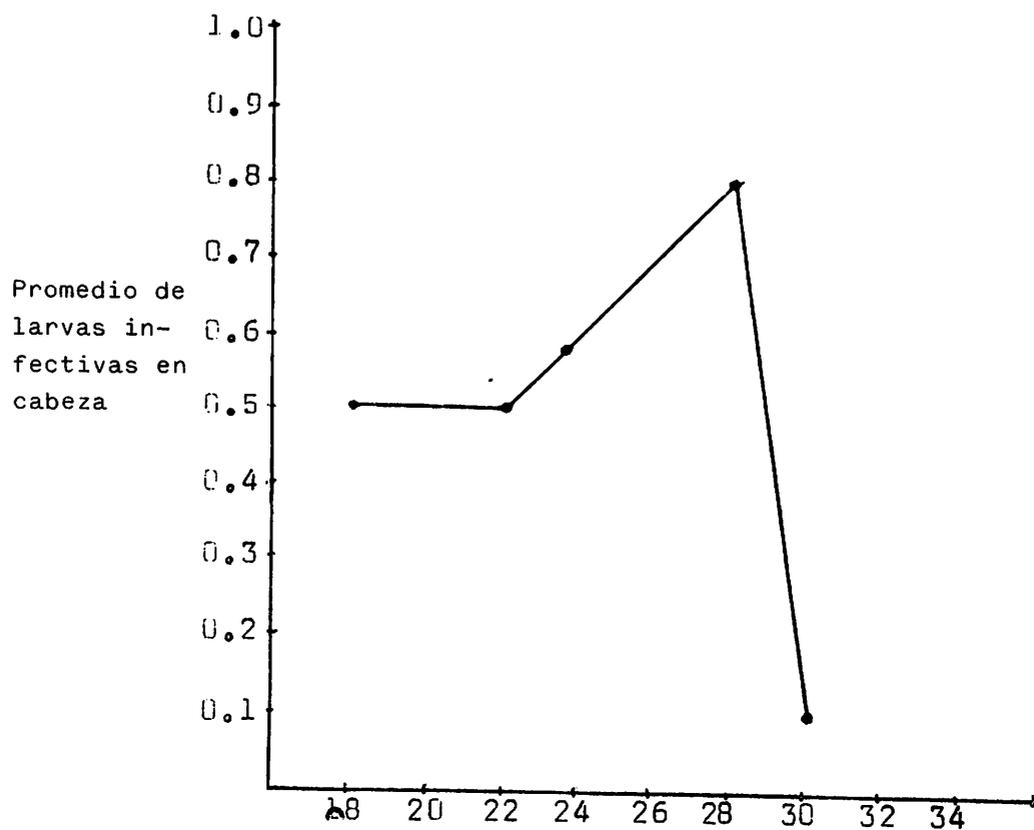
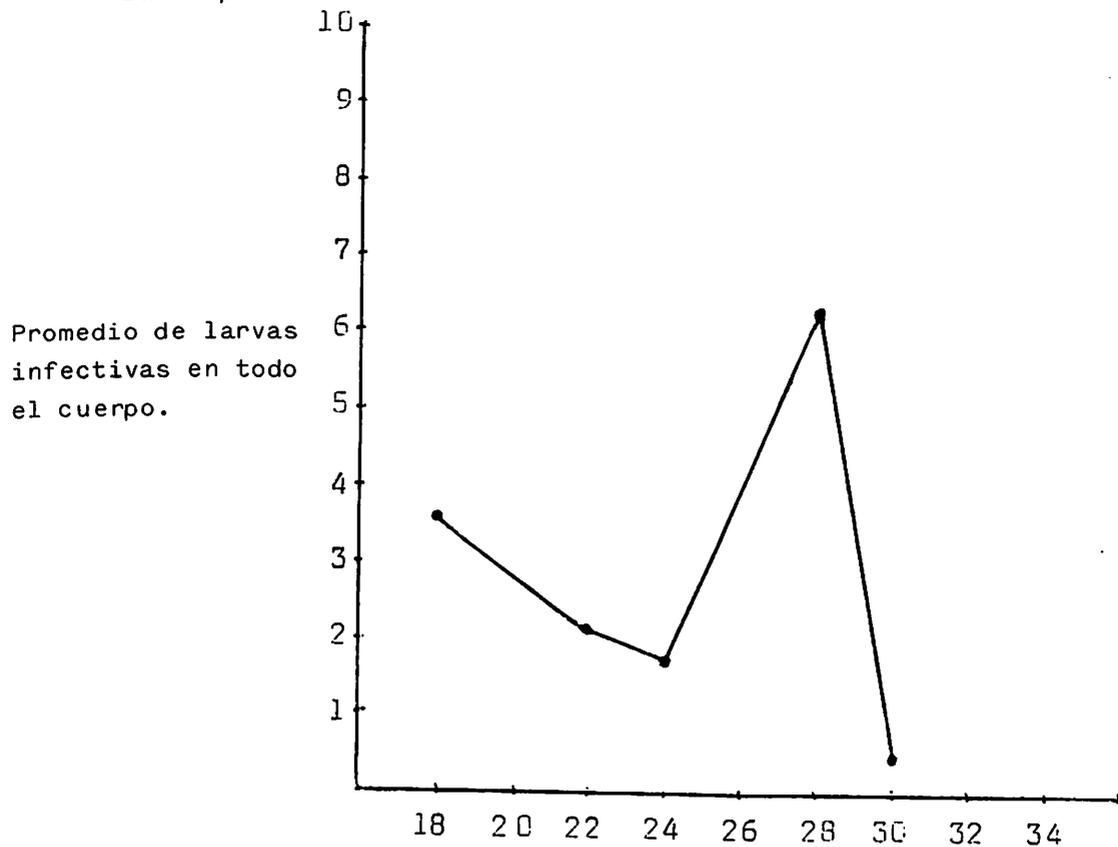
El número promedio de larvas en tercer estadio de O. volvulus encontradas en S. metallicum es de 2.5 en todo el cuerpo, mientras que a nivel de la cabeza es de 0.5.

Se encontró que a 28°C se desarrolla mayor número de larvas de O. volvulus del tercer estadio en S. metallicum, tanto a nivel de todo el cuerpo como en cabeza.

Aparentemente a 28°C, la velocidad de desarrollo del parásito, la sobrevivencia del mosquito y el número de larvas de O. volvulus en desarrollo nos indican que esta temperatura es muy "conveniente" para la transmisión de la Onchocerciasis. Lo que nos haría pensar que S. metallicum podría ser un transmisor de la Onchocercosis en zonas endémicas de baja altitud (mayor temperatura), zonas que generalmente son de ganadería.

GRAFICA No. 10

Número promedio de larvas infectivas de O. volvulus localizadas a nivel de cabeza y todo el cuerpo de S. metallicum, con respecto a la temperatura.



8.11. LONGITUD PROMEDIO DE LA LARVA DEL TERCER ESTADIO DE O. VOLVULUS EN S. METALLICUM, Y LA TEMPERATURA DE INCUBACION

En la gráfica No. 11 se muestra histogramas que presentan el número de larvas del tercer estadio de O. volvulus encontradas en diferentes partes del S. metallicum, a diferentes temperaturas.

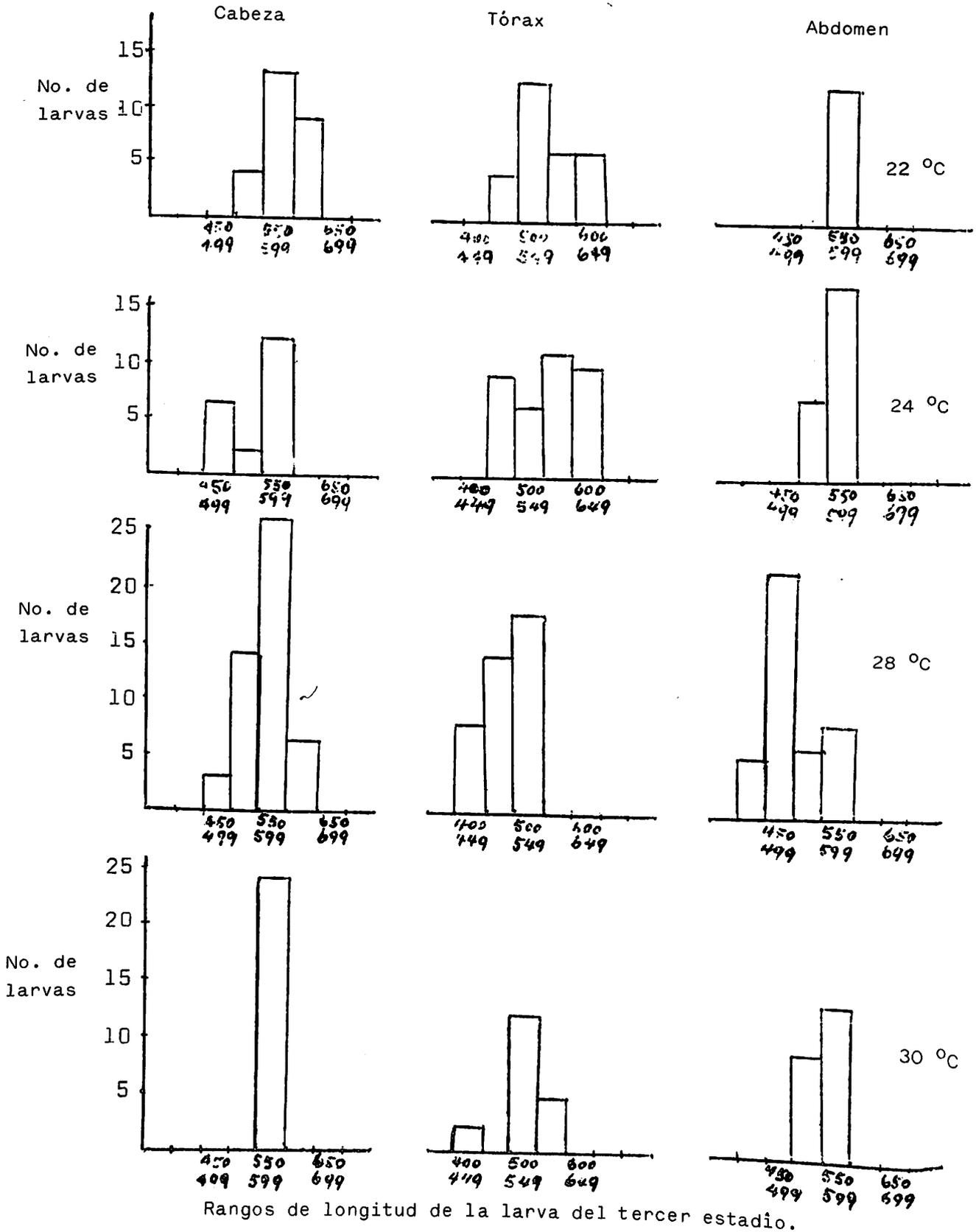
Para las cuatro temperaturas analizadas (22, 24, 28 y 30°C), a nivel de cabeza, tórax y abdomen de S. metallicum, se observa que el rango de mayor número de larvas de O. volvulus en tercer estadio, se encuentra entre 550 y 599 micras. Todas menores de 649 y mayores de 400 micras de longitud.

En S. metallicum la larva de O. volvulus en tercer estadio con una longitud máxima fue de 632 micras, localizada a nivel de la cabeza y a 22°C de incubación. La longitud mínima fue de 418 micras, localizada en tórax a 28°C.

Para el presente experimento se encontró que la longitud de las larvas de O. volvulus en tercer estadio desarrolladas en S. metallicum; parece que no presentan mayor diferencias de longitud, con respecto a las larvas de O. volvulus en tercer estadio encontradas en S. ochraceum por Monroy y en S. damnosum por Duke.

GRAFICA No. 11

Número de larvas del tercer estadio de *O. volvulus* encontradas en distintas partes de *S. metallicum*, con respecto a su longitud, en diferentes temperaturas.



8.12. ALGUNAS ANORMALIDADES DE LA LARVA DE O. VOLVULUS AL DESARROLLARSE EN S. METALLICUM

En la serie de fotografías No. 2 se presenta algunas anomalías más comunes que ocurren en la larva de O. volvulus localizadas en S. metallicum.

Algo muy importante y que debe tomarse en cuenta en el estudio de S. metallicum como vector de la oncocerciasis, es la frecuencia de encontrar ciertas deformaciones en las larvas de Onchocerca volvulus, en los diferentes estadios, por ejemplo:

En algunos casos para el primer estadio, el engrosamiento o crecimiento lateral de la larva no se hace a todo lo largo, sino que una parte de su cuerpo se engrosa normalmente y la otra parte se queda como en estado inicial (F.No. 1). En otros casos, la larva se corruga lo que la hace indistinguible (F. No. 2).

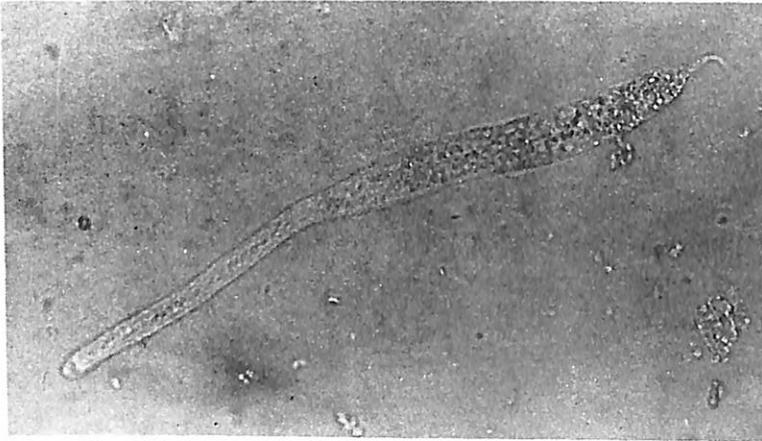
En segundo estadio, fue común encontrar agrandamiento o ensanchamiento desordenado en algunas partes (F. No. 3). También cierta estrangulación transversal en algunas regiones (F. No. 4) y (F. No. 5).

En el tercer estadio se pudo encontrar algunas larvas con los extremos corrugados - (F. No. 6).

Cabe señalar que éstas deformaciones ocurren con más frecuencia a menor temperatura de cultivo, de tal manera que:

- A 14 y 18°C es muy frecuente.
- A 22 y 24°C es frecuente.
- A 28 y 30°C es poco frecuente.

Posiblemente esto tiene relación con la capacidad vectorial de S. metallicum, para la transmisión de la oncocerciasis.

SERIE DE FOTOGRAFÍAS No. 2F. No. 1

Larva en Primer Estadio
Anormalidad de engrosa-
miento.

A 8 días de cultivo.

Aumento 200x.

Localizada en tórax.

A 24°C de incubación

F. No. 2

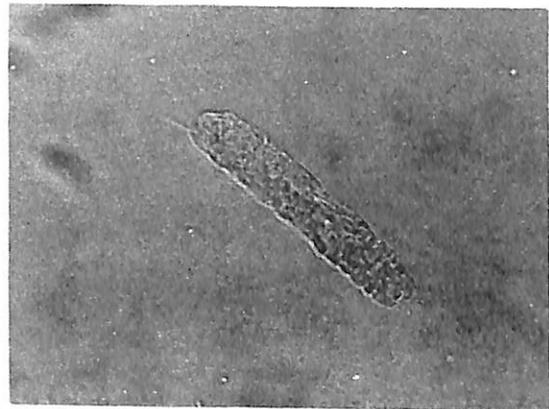
Larva de Estadio Indi-
ferenciado

A 15 días de cultivo.

Aumento 200x.

Localizada en tórax

A 18°C de incubación

F. No. 3

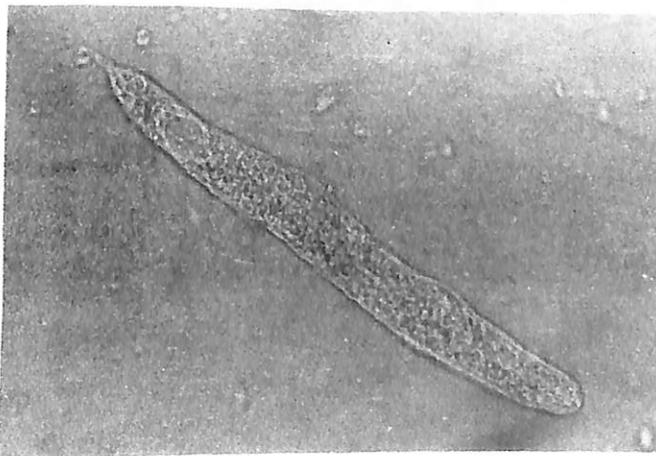
Larva en Segundo Estadio.
Con agrandamiento desor-
denado.

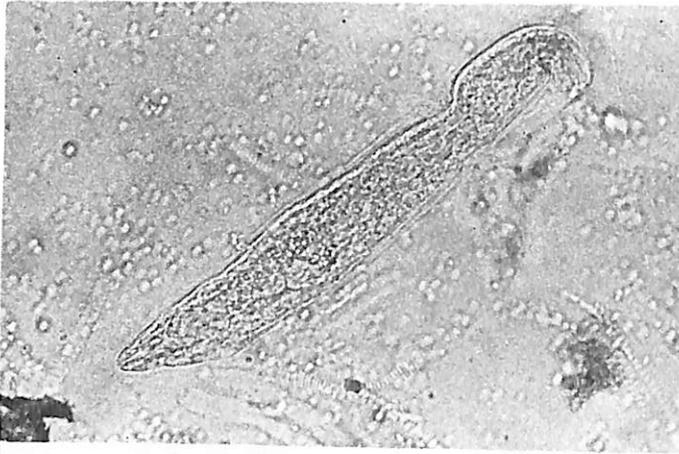
A 9 días de cultivo.

Aumento 200x.

Localizada en tórax

A 18°C de incubación.

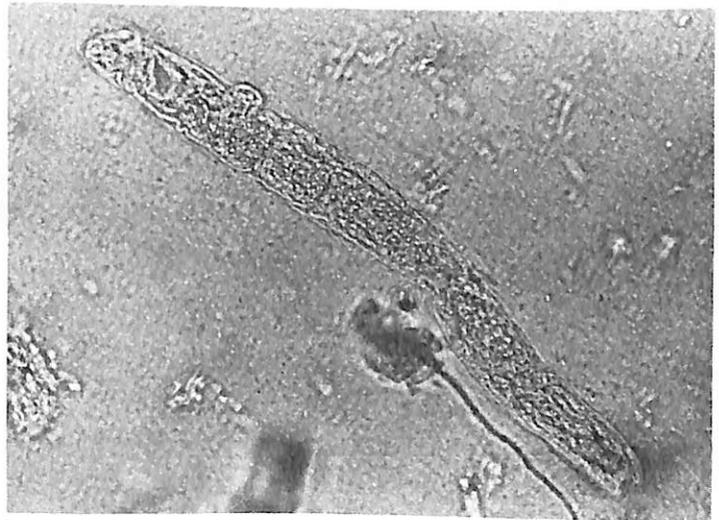


SERIE DE FOTOGRAFÍAS No. 2F. No. 4

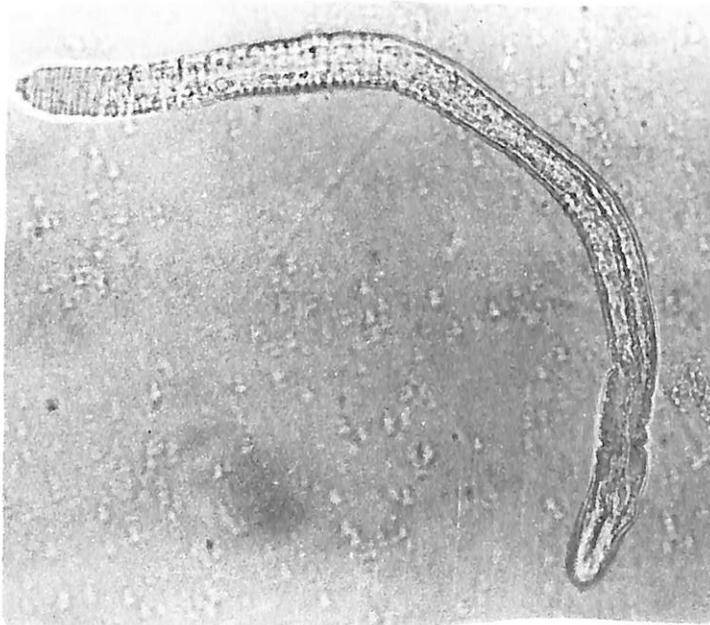
Larva en Primer Estadio
 Con agrandamiento desordenado
 A 8 días de cultivo
 Aumento 200x.
 Localizada en tórax
 A 18°C de incubación

F. No. 5

Larva en Segundo Estadio
 Con estrangulamiento en
 distintas regiones
 A 6 días de cultivo
 Aumento 200x.
 Localizada en tórax
 A 24°C de incubación

F. No. 6

Larva en Tercer Estadio
 Con corrugación en los
 extremos.
 A 11 días de cultivo
 Aumento 200x.
 Localizada en tórax
 A 24°C de incubación



8.13. OTROS PARASITOS LOCALIZADOS EN S. METALLICUM

En la serie de fotografías No. 3 se muestra algunos parásitos más comunes que fueron encontrados en S. metallicum para el presente experimento.

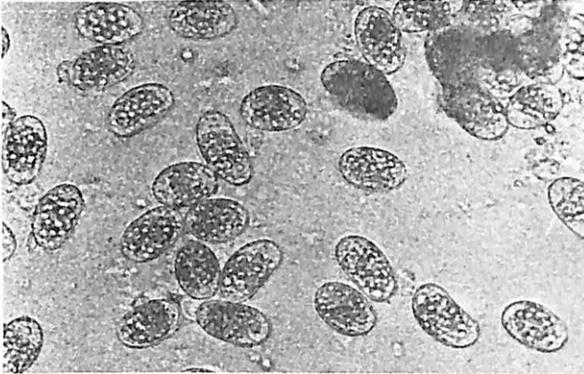
En S. metallicum se encuentran otros parásitos que varían de acuerdo al tipo de riachuelo que le sirve de criadero, y generalmente son nemátodos y hongos.

Por ejemplo, en la finca "Buena Vista" que los riachuelos son de fondo arenoso es muy frecuente encontrar memertidios pero, en la finca "La Colina" por ser sus riachuelos de fondo rocoso no se encontró memertidios y sí otro tipo de filarias desconocidas, como la descrita por Garms en 1975 que presenta tres protuberancias en la región distal y como 2.5 veces más larga que la O. volvulus. De ésta se encontró con mucha frecuencia en tercer estadio, tanto en tórax, cabeza como abdomen.

También se encontró un tipo de nématodo desconocido que se parece a la filaria tipo F descrito por Duke en S. damnosum, ya que presenta el extremo posterior agudo y no redondeado como en O. volvulus y de longitud un poco mayor.

Entre los hongos se encontró de varias formas, generalmente en abdomen a nivel de ovarios y tubos de malpighi posiblemente del tipo Phycomycete.

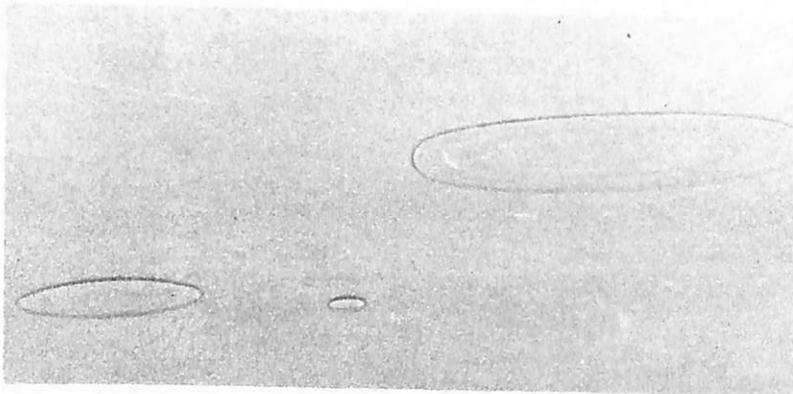
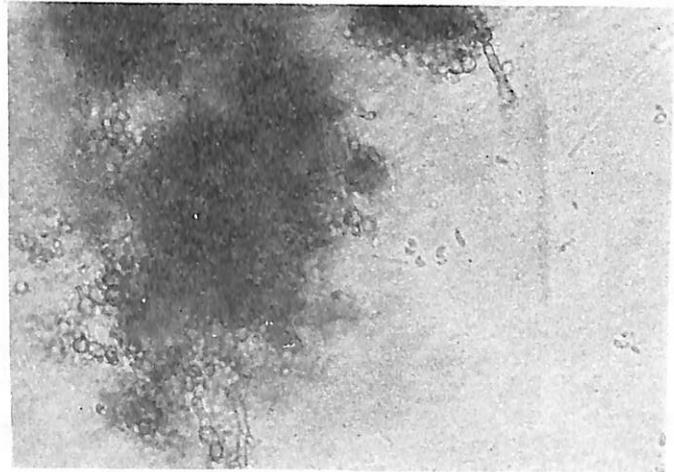
Importante es mencionar que los parásitos de (F. No. 1) y (F. No. 4), también fueron reportados por Monroy en 1979 al encontrarlos en S. ochraceum.

SERIE DE FOTOGRAFIAS No. 3F. No. 1

Hongo posiblemente
Phycomycete.
Parásito del abdomen
A 6 días de cultivo
Aumento 200x.
A 24°C de incubación

F. No. 2

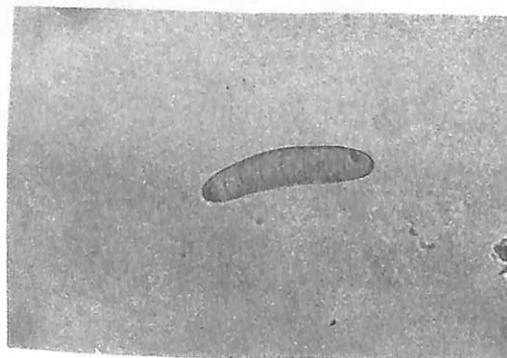
Hongo posiblemente
Phycomycete
Localizado en abdomen
A 10 días de cultivo
Aumento 200x.
A 18°C de incubación

F. No. 3

Parásito Desconocido
Localizado en Tórax
A 8 días de cultivo
Aumento 200x.
A 18°C de incubación

F. No. 4

Hongo posiblemente
Phycomycete
Localizado en tórax
A 15 días de cultivo
Aumento 200x.
A 18°C de incubación

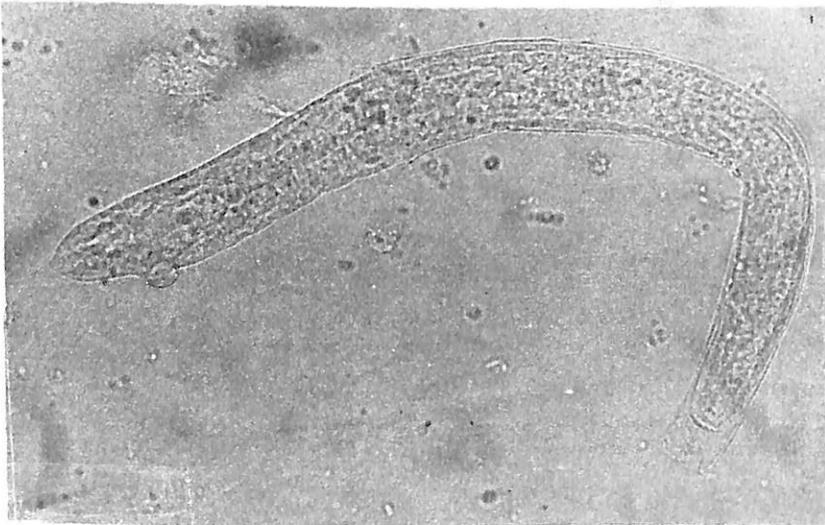
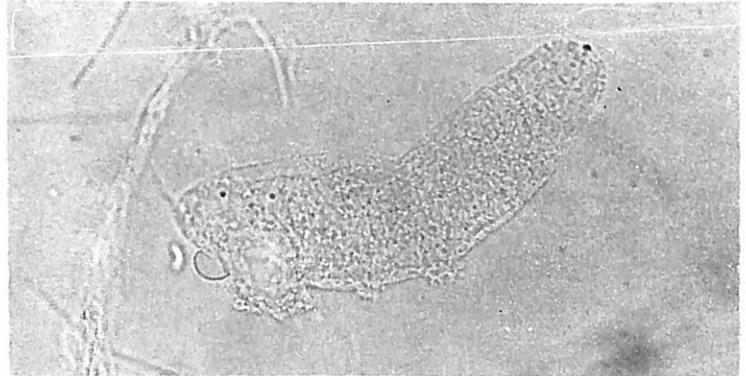


SERIE DE FOTOGRAFÍAS No. 3

Las fotografías 5, 6 y 7 corresponden a larvas de la filaria desconocida que fue descrita por Garms en 1975. La que presenta tres protuberancias en la región distal, que se observan claramente en el Tercer Estadio.

F. No. 5

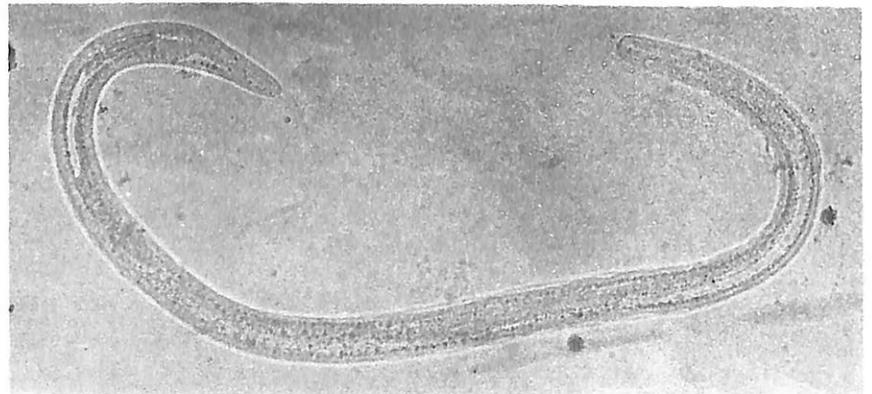
Larva en Primer Estadio
Localizada en tórax
A 10 días de cultivo
Aumento 200x.
A 18°C de incubación

F. No. 6

Larva en Segundo Estadio
Localizada en abdomen
A 2 días de cultivo
Aumento 200x.
A 22°C de incubación

F. No. 7

Larvas en Tercer Estadio
Localizada en abdomen
A 10 días de cultivo
Aumento 100x.
A 18°C de incubación



CONCLUSIONES

9.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente experimento, se encontró que a nivel de laboratorio:

- a) Utilizando la técnica aquí empleada, el porcentaje de mortalidad de S. metallicum al ser transportado en hieleras, del lugar de captura al laboratorio es bastante bajo.
- b) Aparentemente de los S. metallicum ingurgitados, son más susceptibles los que se alimentan con sangre del voluntario con microfilarias en la piel que de un voluntario sin microfilarias, tanto al ser transportados, como para su mantenimiento en el laboratorio.
- c) La temperatura afecta directamente la sobrevivencia de S. metallicum. A mayor temperatura, menor sobrevivencia.
- d) La temperatura a la que aparece la larva del tercer estadio, en el desarrollo de O. volvulus en S. metallicum es a 18°C.
- e) El rango de temperatura que nos permite observar larvas del tercer estadio para el desarrollo de O. volvulus en S. metallicum, parece estar comprendido entre los 18 y 30°C.
- f) A temperaturas mayores de 30°C, S. metallicum sobrevive menos de veinticuatro horas.
- g) El desarrollo de O. volvulus en S. metallicum es asincronizado, ya que se encuentran microfilarias aún donde ya hay larvas del tercer estadio. Esto ocurre con mayor frecuencia a bajas temperaturas como 14 y 18°C.
- h) La temperatura afecta directamente el tiempo requerido para completar el desarrollo de O. volvulus en S. metallicum. A mayor temperatura, menor es el tiempo de desarrollo del parásito.
- i) La sobrevivencia de S. metallicum al día en que aparece la larva infectiva de O. volvulus es menor en los extremos del rango de temperatura, a 18 y 30°C.
- j) El porcentaje de infección de O. volvulus en S. metallicum es más bajo en los extremos del rango de temperatura para el desarrollo hasta larva en tercer estadio.
- k) La larva de O. volvulus al desarrollarse en S. metallicum, parece que tiene tendencias a sufrir deformaciones. Aunque a mayores temperaturas como 28 y 30°C es poco frecuente
- l) Parece ser que la temperatura óptima para el desarrollo de O. volvulus en S. metallicum está entre 26 a 28°C, tomando en cuenta que en este rango las larvas sufren menos deformaciones, el desarrollo de O. volvulus es más ordenado, hay mayor sobrevivencia del mosquito al día en que aparece la larva infectiva en la cabeza y el número de larvas de O. volvulus en desarrollo es mayor.

10.

RECOMENDACIONES

- a) Estudiar el desarrollo experimental de O. volvulus en S. metallicum a nivel de campo, para comparar con los datos obtenidos en el laboratorio.
- b) Hacer un estudio de los distintos parásitos comunes en S. metallicum y compararlos con los encontrados en S. ochraceum, ya que probablemente podrían ser utilizados en control biológico.
- c) Hacer un estudio de tipo experimental para tratar de determinar; si la larva en tercer estadio de O. volvulus localizada en tórax del mosco puede llegar a infectar o sólo las larvas localizadas en cabeza.
- d) Hacer un análisis a nivel bioquímico, para tratar de encontrar el porqué ocurre ciertas deformaciones en O. volvulus al desarrollarse en los músculos torácicos de S. metallicum.
- e) Hacer un estudio sobre morfología para comparación de O. volvulus, O. guturosa y O. cervicalis a nivel de laboratorio, para una mejor identificación de las mismas al hacer experimentos de su desarrollo.
- f) No desestimar la capacidad vectorial de S. metallicum, sobre todo en zonas endémicas - de baja latitud para Guatemala.

11.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, F.: Enfermedad de Robles, Oncocercosis. Folletos Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. Guatemala, 9 p. 1974.
2. Anderson, R.I., Fazen, L.E., and Buck, A.A.: Onchocerciasis in Guatemala II. Microfilaria in Urine, Blood as Sputum After Diethilecarbazine. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 24: 58-61. 1975
3. Ayalde, Jaime: Oncocercosis en las Américas. OPS/OMS. Washington, D.C. Simposium Internacional sobre la Oncocercosis en México. San Cristobal Las Casas, Chiapas, México. Octubre. 1979.
4. Blacklock, D.B.: The development of Onchocerca volvulus in Simulium damnosum. Am. Trop. Med. Parasit., 20: 148. 1926
5. Collins, R.C.: Onchocerciasis transmission potentials of four species of Guatemalan Simuliidae. Am. J. Trop. Hyg. 28(1). pp 72-75. 1979.
6. Collins, R.C.: Development of Onchocerca volvulus in Simulium ochraceum and Simulium metallicum. Am. J. Trop. Med. Hyg., 28(3). pp 491-495. 1979.
7. Collins, R.C., C.C. Campbell., D.P. Wilton, L. Newton. Quantitative Aspects of the Infection of Simulium Ochraceum by Onchocerca volvulus. Tropenmed Parasit. (28) 235-243. 1977.
8. Craig and Faust's: Clinical Parasitology. Lea S. Febiger Philadelphia. 380-387. 890p. Eighth Edition. 1970.
9. Dalmat, H. T.: The Black Flies (Diptera, Simuliidae) of Guatemala and their role as vectors of onchocerciasis. Smithsonian Miscellaneous collections. Washington. 1524 p. 1955.
10. Dorland., W.A. Newman.: The American Illustrated Medical Dictionary. Philadelphia and London. W.B. Saunders Company. 20th. Edition. 1944.
11. Duke, B.O.L.: Infective filaria larvae, other than Onchocerca volvulus in Simulium damnosum. Rep. Annals of Tropical Medicine and Parasitology. Vol. 61. No. 2. pp 200-204. 1967.
12. Figueroa M. Horacio.: Enfermedad de Robles una lesión cutánea poco frecuente. Revista del Colegio Médico. pp 80-84. Junio 1977.
13. Figueroa, M. Horacio.: Historia y Distribución de la Enfermedad de Robles en Guatemala. Simposium Internacional, La Oncocercosis en México. 15 p. Octubre 1979.
14. Figueroa, M. H. Collins, R.C. and J. Kosek.: Post-Prandial transportation and maintenance of Simulium ochraceum infected with Onchocerca volvulus. Am. J. Trop. Med. and Hyg. (26) 75-79. January 1977.

15. Figueroa, M. H. and C. García G.: Laboratory Maintenance of Blood-Fed Simuliids Infected with Onchocerca volvulus by Provision of a Single Sugar meal. WHO/ON--CHO/70. 136.
16. Garms, R.: Observation on Filarial INfections and Parous Rates of Anthropophilic - Blackflies in Guatemala, With Reference to the Transmission of Onchocerca volvulus Tropenmed. Parasit. 26(169-182). 1975.
17. Hamon, J. and L. Kartmann.: El Azote de la Oncocercosis. Salud Mundial. Rev. I--lustrada de la Organización Mundial de la Salud. (3-13). Octubre 1973.
18. Hernández Arreortúa, H.: La Oncocercosis en México, Epidemiología General y Con--trol. Simposium Internacional sobre la Oncocercosis en México. 1979.
19. Ito, Sumiyo.: Capacidad del Simulium metallicum como vector de Onchocerca volvulus. Sin publicar.
20. Matsua, K. Okasawa T., Onoshi, O. and J.O. Ochoa A.: Maintenance of the adults of Guatemalan black flies Simulium ochraceum, in the laboratory. Jap. J. Sanit. Zool. Vol. 29 No. 3. pp 251-254. 1978.
21. Mazzotti, L.: Observation based on cutaneous biopsies in onchocerciasis. Amer. J. Trop. Med. 31. 626-627. 1951.
22. Menegazzo, J.C. La Enfermedad de Robles (Onchocercosis). Ministerio de Salud Pú--blica y Asistencia Social - SNEM. Guatemala. 1980.
23. Monroy, E., María C.: Infección experimental de Simulium ochraceum, con microfilarias de Onchocerca volvulus. Univ. San Carlos de Guatemala, Facultad de Far--macia. Octubre de 1979.
24. Nelson, G. S. and Pester, F.I.S.T.: The Identification of Infective Filarial Larvae in Simuliidae. Bull. Org. Mond. Sante. Bull. Wld. Hlth. Org. 27 473-481. 1972.
25. Ochoa A., J. Onofre.: Nociones de Entomología Médica y de los Transmisores de la Oncocercosis en América. Sección de Educación Sanitaria. (SNEM). 10p. Guatemala. 1976.
26. Ochoa A., J. Onofre.: Enfermedad de Robles (Onchocercosis) en América. Folleto de SNEM. 1977.
27. Omar, M. S., and R. Garms.: The Fate Migration of Microfilarias of a Guatemalan Strain of Onchocerca volvulus in Simulium ochraceum and S. metallicum and role of Buccopharyngeal armature en the destruction of Microfilarias. Tropenmed. Pa--rasit. (26) 183-190. 1975.
28. Omar, M.S., and R. Garms.: Lethal Damage to Simulium metallicum Following High Itakes of Onchocerca volvulus Microfilarias in Guatemala. Tropenmed. Parasit. 28. 1977.
29. Ramírez-Perez.: Estudio sobre la Morfología de S. metallicum, Vector de la Oncocercosis en Venezuela. Organización Panamericana de la Salud. 140 p. U.S.A. 1977.

30. Sasa, Manabu.: Human Filariasis. University of Tokio. Press. Japan. 1976.
31. Susuki T., and I.G. Seregeg.: A Mass Dissection Technique for Determining Infectivity rate of filariasis Vectors. World Organizati on Mondiale de la Santé. 1978.
32. Tada, Isao.: The Density of Onchocerca volvulus Microfilariae in the Skin at Different Times of the Day in Guatemala. Pep. From Japaness Journal of Parasitology. Vol. 23, No. 4. 220-225. Aug. 1974.
33. Takahoka, H., A. Luján.: Inmunodiagnóstico de Onchocercosis. Folleto Laboratorio "Dr. Isao Tada". (SNEM) Guatemala. 1979.

ANEXO NO. 1

Cálculos para determinar la Recta de Regresión, el Coeficiente de Correlación y la distribución "F", para la relación entre el máximo de sobrevivencia de S. metallicum en condiciones de laboratorio, ingurgitados con sangre de un paciente oncocercoso y la temperatura de cultivo.

Donde: X = Temperatura de cultivo

Y = Días de sobrevivencia de S. metallicum ingurgitado con sangre de un paciente oncocercoso.

X	Y	XY	X ²	Y ²
14	20	280	196	400
18	21	378	324	441
22	17	374	484	289
24	14	336	576	196
28	12	336	784	144
30	6	180	900	36
Σ 136	Σ 90	Σ 1884	Σ 3264	Σ 1506

1. Cálculo del Coeficiente de Corrección para las variables.

Fórmulas usadas:

$$R = \frac{N \sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[N \sum X^2 - (\sum X)^2][N \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

$$R = \frac{(6)(1884) - (136)(90)}{\sqrt{[6(3264) - (136)^2][6(1506) - (90)^2]}}$$

$$R = -0.95$$

2. Cálculo de la Ecuación de Regresión:

Fórmulas usadas:

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y}{N}; \quad \bar{X} = \frac{\sum X}{N}; \quad C_{xy} = \sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{N}$$

$$S_x = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}; \quad a = \frac{C_{xy}}{N}; \quad b = \bar{Y} - a\bar{X};$$

$$Y = aX + b;$$

Resultados Parciales:

$$\bar{Y} = 15; \quad \bar{X} = 22.66; \quad C_{xy} = -156;$$

$$S_x = 181.4; \quad a = -0.859; \quad b = 34.46;$$

Resultado final: Ecuación de la Recta de Regresión:

$$Y = -0.859X + 34.46$$

3. Calculo de la Distribución "F"

Fórmulas Usadas:

$$S_y = \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N}; \quad S_x = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N};$$

$$S_e = S_y - SR; \quad SR = \frac{(C_{xy})^2}{S_x}; \quad F_s = \frac{SR}{S_e/N-2};$$

Resultados parciales:

$$S_y = 156; \quad S_x = 181.4; \quad C_{xy} = -156;$$

$$S_e = 21.9; \quad SR = 134.1; \quad F_s = 24.5;$$

Resultado Final de la Distribución "F"

$$F_s = 24.5 > F_4^1(0.01) = 21.20$$

$$F_s = 24.5 > F_4^1(0.05) = 7.71$$

ANEXO No. 2

Cálculos para determinar la Recta de Regresión, el Coeficiente de Correlación y la distribución "F", para la correlación entre 1/día en que aparece la larva infectiva de O. volvulus en la cabeza de S. metallicum, con las diferentes temperaturas.

Donde: X = Temperatura de cultivo.

Y = 1/D en que la larva infectiva aparece en la cabeza de S. metallicum

X	Y	XY	X ²	Y ²
18	0.0588	1.0584	324	0.08618
22	0.1000	2.2000	484	0.01000
24	0.1111	2.6664	576	0.01234
28	0.1428	3.9984	784	0.02039
30	0.2000	6.0000	900	0.04000
Σ 122	Σ 0.6127	Σ 15.9232	Σ 3068	Σ 0.08618

1. Cálculo del Coeficiente de Correlación, para las variables:

Fórmulas usadas:

$$R = \frac{N \sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[N \sum X^2 - (\sum X)^2][N \sum Y^2 - (\sum Y)^2]}}$$

$$R = \frac{(5)(15.9232) - (122)(0.6127)}{\sqrt{[5(3068) - (122)^2][5(0.08618) - (0.6127)^2]}}$$

$$R = 0.967$$

2. Cálculo de la Ecuación de Regresión:

Fórmulas usadas:

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y}{N}; \quad \bar{X} = \frac{\sum X}{N}; \quad C_{xy} = \sum XY - \frac{(\sum X)(\sum Y)}{N};$$

$$S_x = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N}; \quad a = \frac{C_{xy}}{N}; \quad b = \bar{Y} - a\bar{X}; \quad \bar{Y} = a\bar{X} + b;$$

Resultados Parciales:

$$Y = 0.1225; \quad X = 24.4; \quad C_{xy} = 0.9734;$$

$$S_x = 91.2; \quad a = 0.0106; \quad b = -0.1361;$$

Resultado Final: Ecuación de la Recta de Regresión

$$Y = 0.0106x - 0.1319$$

3. Cálculo de la Distribución "F"Fórmulas usadas:

$$S_y = \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{N}; \quad S_x = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N};$$

$$S_e = S_y - SR; \quad SR = \frac{(C_{xy})^2}{S_x}; \quad F_s = \frac{SR}{S_e/N-2};$$

Resultados parciales:

$$S_y = 0.01110; \quad S_x = 91.2; \quad C_{xy} = 0.9734;$$

$$S_e = 0.0008; \quad SR = 0.0103; \quad F_s = 39.6153$$

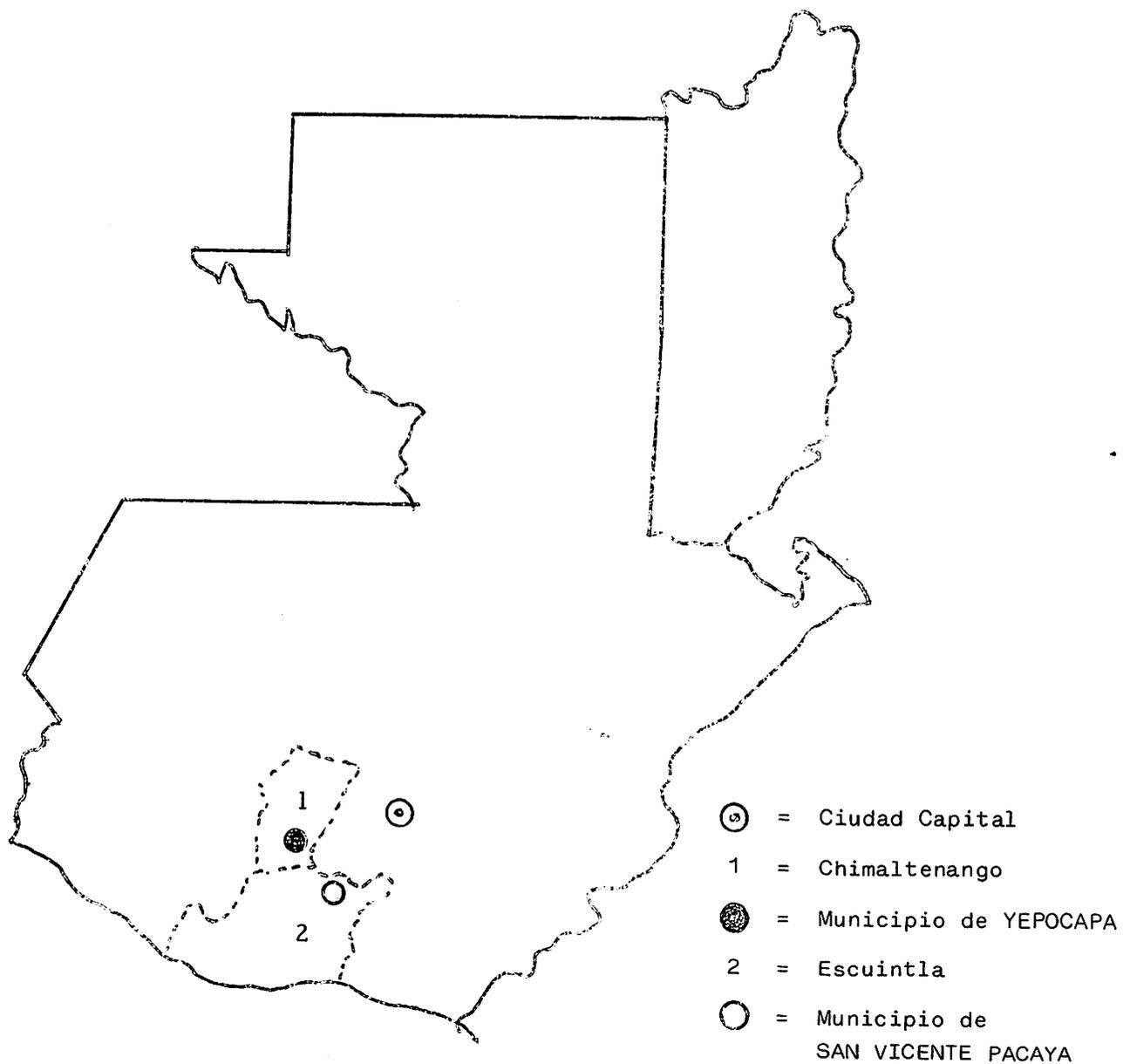
Resultado final de la Distribución "F"

$$F_s = 39 \gg F_2^1(0.01) = 21.20$$

$$F_s = 39 \gg F_2^1(0.05) = 7.71$$

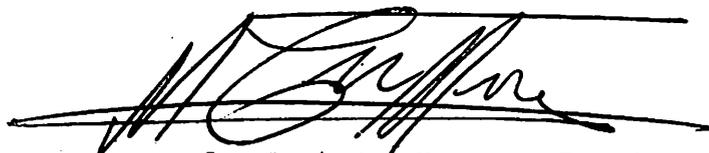
ANEXO No. 5

MAPA DE LA REPUBLICA DE GUATEMALA



Departamentos de Chimaltenango y Escuintla en donde se
señala los lugares de trabajo en el campo.

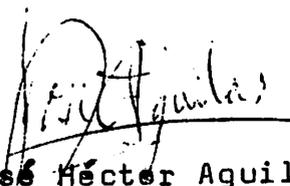

Julio César Menegazzo Valdez.



Lic. María Carleta Menrey Escebar.
Asesora.



Lic. Gustavo César Ramos E.
Director.
Escuela de Biología.



Dr. Jess Héctor Aguilar.
Decano en Funciones.
Facultad de Ciencias Químicas
y Farmacia.