

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

**PRESENCIA DE *PARAGONIMUS MEXICANUS* EN
EL AREA DEL RIO DE LOS ESCLAVOS,
MUNICIPIO DE CUILAPA, DEPARTAMENTO DE
SANTA ROSA**

Informe de tesis
Presentado por:
MARIA DE LOS ANGELES ROSAS GARCIA

Para optar al título
BIOLOGA

Guatemala, noviembre del 2000

DL
06
T(2033)

JUNTA DIRECTIVA

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

DECANA: Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

SECRETARIO: Lic. Oscar Federico Nave Herrera

VOCAL I: Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

VOCAL II: Dr. Rubén Dariel Velázquez Miranda

VOCAL III: Dr. Federico Adolfo Richter Martínez

VOCAL IV: Br. César Alfredo Flores López

VOCAL V: Br. Manuel Anibal Leal Gómez

DEDICO ESTA TESIS

A MI DIOS Y SALVADOR

Gracias por hacerme libre y darme vida eterna abundante, por vivir en todo mi ser y disfrutar de tu hermosa presencia, tu perfecto amor y sabiduría. Y porque puedo testificar de lo que haces en mi vida y en los míos. Te amo Padre.

A MI ESPOSO

Jorge por su amor, por ser mi compañero, fiel amigo, padre y esposo sin igual. Lo amo.

A MIS TRES BELLOS TESOROS

A mi Paulis, mi Danie y mi hijo Jorge Mario, mis tres grandes alegrías, cuanto los amo, mis lindos.

A MI PAPA

Por ser una gran amigo, y por apoyarme a lo largo de mi vida y mostrarme el verdadero amor por los demás y por la creación. ¡Pareces más biólogo que yo!
Eres ejemplo de esmero, trabajo y honradez.
Te amo.

A MI HERMANA LIGIA

Te quiero mucho, gracias por haberme llevado a conocer la senda perfecta y ser mi ejemplo de madre

A MIS DOS LINDOS SOBRINOS

Los quiero mucho, Luis Fernando y Javier Alejandro, son una parte hermosa de mi vida y dan alegría a muchos momentos de ella.

A MI MAMA Y HERMANO

Porque aún no estando aquí, yo se que estarán felices de verme cuando en la eternidad les cuente que hice de mí la mujer que siempre desearon ver.
Los recuerdo con todo amor.

A MIS AMIGOS

Amanda, amiga sincera y super especial. Corina, Christian, Baldetti, Moya, Rony y Karina. Todos ustedes son como una especie en extinción, gracias a Dios también por eso. Los quiero muchísimo.

AGRADECIMIENTOS

A mi Padre Celestial, por todo su amor, sabiduría y paciencia dada, para que yo pueda realizar una de mis más preciadas metas que hoy logro alcanzar.

A mi esposo Jorge por, su amor y apoyo incondicional para la elaboración de mi tesis.

A mis pequeñitos, por son el principal motivo de mi esmero y esfuerzo para la realización de este sueño.

A mi amiga y asesora Licda. M.Sc. Carlota Monroy, por todo el apoyo y comprensión brindados durante la realización de mi tesis.

Al Gobierno del Japón y muy especialmente al Dr. Takeshi Agatsuma, por brindarme su confianza y financiamiento para la realización de este trabajo.

Al equipo de investigadores del Centro de Investigación de Chagas de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por permitirme realizar la parte experimental del presente trabajo en dichas instalaciones.

Al Lic. M.Sc. Sergio Melgar Valladares por brindarme su apoyo y ayudarme en la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Miguel Solís y Dr. Rolando Wer, por la ayuda técnica, equipo y lugar, prestados para la disección de los animales utilizados para esta investigación.

A la Licda. Silvia Bohr, por sus sinceras muestras de cariño y su ayuda incondicional.

Br. Lester López, Br. Inga Ruíz y Br. Ana José Cobar por la obtención de datos.

A Tía Zoila, Tía Concha y a Micaela por cuidar de mi simiente cuando yo lo he necesitado.

I. INDICE

1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCION	4
3. ANTECEDENTES	6
3.1. Generalidades	6
3.1.1. Paragonimiasis	6
3.1.2. Datos históricos	7
3.2. Taxonomía del Parásito	8
3.3. Morfología	8
3.3.1. Adulto	8
3.3.2. Cercaria y Metacercaria	9
3.4. Ciclo evolutivo	9
3.5. Historia en América	10
3.6. Distribución geográfica	14
3.7 Río Los Esclavos, Departamento de Santa Rosa	14
4. JUSIFICACION	16
5. OBJETIVOS	17
5.1. Objetivo general	17
5.2. Objetivos específicos	17
6. MATERIAL Y METODOS	18
6.1. Universo de Trabajo	18
6.2. Areas de muestreo	18
6.3. Recursos	18
6.3.1. Recursos humanos	18
6.3.2. Recursos físicos	18
6.3.3. Recursos financieros	19
6.4. Material y Equipo	19
6.4.1. Equipo	19
6.4.2. Reactivos	20
6.5. Métodos	21
6.5.1. Colecta de los cangrejos	21
6.5.2. Localización de las metacercarias	21
6.5.3. Inoculación en hospederos finales	22

6.5.4. Necropsia de los gatos	23
6.5.5. Análisis estadísticos	24
7. RESULTADOS	26
8. DISCUSION DE RESULTADOS	30
9. CONCLUSIONES	37
10. RECOMENDACIONES	40
11. REFERENCIAS	41
12. ANEXOS	43

1. RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo principal de comprobar la presencia del tremátodo platelminto *Paragonimus mexicanus*, en cinco afluentes de agua del río de Los Esclavos del municipio de Santa Rosa, Cuilapa: Renacimiento, quebrada San José, quebrada El Coletto, quebrada La Cochera y el río San Juan Tapalapa, durante los meses de septiembre, octubre y noviembre.

Se colectó un total de 312 cangrejos, de los cuales 58 se encontraron infectados por el parásito (18.59%). El Renacimiento fue el área más afectada (39.65%).

Los cangrejos infectados tuvieron medidas promedio de 2.4 cms de ancho y 1.6 cms de largo. El largo fue significativamente menor al de los cangrejos no infectados, y el ancho no fue diferente, entre cangrejos infectados y no infectados. El sexo no influyó de manera significativa en el porcentaje de infección de los cangrejos.

Se obtuvo un total de 206 metacercarias en los 58 cangrejos infectados. Al igual que la cantidad de cangrejos infectados, Renacimiento fue el lugar con mayor cantidad de metacercarias encontradas, con 114 metacercarias (55.34 % del total), en 23 cangrejos infectados.

Algunas metacercarias fueron inoculadas artificialmente a 5 gatos, para describir la sintomatología de los mismos. Dos de los gatos presentaron la sintomatología de la enfermedad provocada por el parásito: tos severa, falta de apetito, disminución de sus signos vitales, entre otros. Uno de ellos murió antes de completar el ciclo de infección (alrededor de 8 semanas) y el otro sí lo completó. Los otros tres gatos restantes no presentaron síntomas y también completaron el ciclo de infección.

2. INTRODUCCION

La paragonimiasis es una enfermedad parasitaria causada por la presencia de un tremátodo platelminto, del género *Paragonimus*, que afecta principalmente el tejido pulmonar en un 98% de los casos y en un 2% otros tejidos, como el hígado y el cerebro (Pérez 1,994).

La transmisión de este parásito se da por medio de dos vectores, un caracol y un cangrejo de agua dulce, siendo el reservorio final un mamífero carnívoro (gato, mapache, tacuazín) o el mismo humano. El parásito llega al tracto digestivo, perforando la pared intestinal, y viaja hasta llegar a los pulmones, de tal forma que se instala en las cavidades bronquiales y allí crece hasta ser un gusano adulto, provocando serios daños en el sistema respiratorio y puede ocasionar hasta la muerte (Aguilar 1,997).

El primer caso de paragonimiasis en Guatemala fue detectado por Caballeros en el año de 1,945 en los pulmones de un zorrillo *Mephitis macroura* y en dos tacuazines *Didelphis marsupialis*, para 1,986 se detectó el primer caso humano en un paciente que refirió haber consumido cangrejos crudos en el área del Playón del Río de los Esclavos, Santa Rosa (Teni 1,993).

Los parásitos del género *Paragonimus* podría llegar a constituir un problema grave de salud para los habitantes, animales silvestres e inclusive animales domésticos, no solamente para esta área, sino para algunas otras aledañas en las que todavía no se conoce de su existencia, ya que dichos parásitos buscan como hospedero intermediario a un cangrejo del género *Potamocarcinus sp.* (Teni 1,993), el cual es de consumo de la región.

Dado que en algunos afluentes existe el parásito, la presente investigación se centró en realizar un muestreo más intensivo . Para ello se investigaron cinco afluentes de agua: El Renacimiento, quebrada San José, quebrada Coletto, quebrada La Cochera y río San Juan Tapalapa.

Se colectaron 312 cangrejos en total y se determinó 58 de ellos infectados con metacercarias de *Paragonimus mexicanus*. Además se describió la sintomatología en gatos infectados artificialmete por dicho parásito. Se detectó así una amplia distribución en la infección en los cangrejos, lo cual nos indica que posiblemente la fauna de mamíferos carnívoros del área aledaña al río de Los Esclavos esté muy afectada por dicho parásito.

3. ANTECEDENTES

3.1. Generalidades

3.1.1. Paragonimiasis

Conocida también como duela pulmonar, diastomiasis pulmonar y hemotisis endémica o parasitaria, se contrae por infección de *Paragonimus* (OMS 1,993). Está distribuida en Asia, Filipinas, Taiwan, Japón y Norte de China, así como América; Canadá, Estados Unidos, Cuba, Brasil, Costa Rica, Ecuador, México, Panamá, Venezuela (Aguilar 1,997). Algunos países se consideran endémicos; Camerún, China, Ecuador, Japón, Perú y República de Corea (OMS 1,993).

Al menos siete especies de *Paragonimus* se han reportado en el hemisferio occidental, pero sólo cuatro de ellas: *P. kellicotti*, *P. caliensis*, *P. mexicanus* y *P. ecuadoriensis* son considerados válidos. Las otras especies: *P. peruvianus*, *P. amazonicus* y *P. inca* se encuentran bajo investigación (Pinillos 1,996).

El diagnóstico de *Paragonimus* específico se basa en el hallazgo de huevos de parásitos en un espécimen de esputo o heces, o huevos o gusanos en las lesiones cutáneas (OMS 1,993).

Aunque representa un problema mayor de salud pública en Asia. En América, es una enfermedad zoonótica con escasa repercusión humana, debido probablemente a las diferencias culturales y hábitos alimentarios de la población expuesta (Alarcón, Noya & Abreu 1,985)

Se ha observado que las áreas fuertemente endémicas de Asia, se encuentran en sitios circunvecinos a corrientes de agua provenientes de las montañas, y que la incidencia es mayor en los varones de todos los grupos etéreos. Esto se debe a que acompañan el licor con crustáceos, y ellos son los que lo ingieren más. Es menos incidente al aumentar la edad (Sadum & Buck 1,953).

3.1.2. Datos históricos de la enfermedad

La paragonimiasis fue descrita por Diessing en 1,850, y en 1,877 Westerman lo encontró en los pulmones de un tigre muerto en el jardín zoológico de Amsterdam, Kerbert lo llamo *Distoma westermani*. En 1,879 Ringer lo identificó en los pulmones de un portugués muerto en Formosa. Cobbold lo denominó *Distoma ringeri*. En 1,880 Manson descubrió los huevos en esputo de un chino que sufría de hemoptisis en Formosa (Pinillos 1996).

Sadum y Buck, en un artículo publicado en 1,953 describen que en 1,887, Otani encontró parásitos por primera vez en el cerebro humano y lo reconoció como la causa de un tipo de epilepsia llamada **Jacksoniana**. También señalan que Braun en 1,899 estableció el género *Paragonimus* y que de 1,880 a 1,907, Meanwhile, Baelz, Yamagiva y Musgrave observaron el parásito y los huevos en chinos, japoneses y filipinos (Pinillos 1,996).

Estos autores también refieren que el ciclo biológico de las especies del género *Paragonimus*, fue desconocida hasta 1,915, cuando Nagasawa reportó el hallazgo de metacercarias enquistadas en un cangrejo de agua dulce y Yokogawa trazó el curso migratorio del parásito desde el tracto digestivo hasta los pulmones del huésped definitivo (Pinillos 1,996).

3.2. Taxonomía del Parásito

Según sus características morfométricas este parásito se clasifica de la siguiente forma:

Reino:	Animal
Subreino:	Metazoa
Filo:	Platelmintes
Clase:	Trematoda
Orden:	Digenea
Familia:	Fasciolidae (Distomidae)
Subfamilia:	Troglotreminae
Género:	<i>Paragonimus</i>
Especie:	<i>Paragonimus mexicanus</i> (Miyasaki et Ishu 1,968)

3.3. Morfología

3.3.1. Adulto

Es un parásito hermafrodita. Mide 8-16 mm x 3 a 4 mm de grosor, vesiculoso o fusiforme, rosado a pardo-rojizo, parecido a un grano de café. Tiene una cutícula transparente provista en toda su extensión de múltiples espinas de forma y tamaños variables. Posee ciegos intestinales flexuosos y no ramificados. Los huevos son ovoides, de 85 por 55 micrómetros, de doble cubierta, amarillos y con opérculo, con una talla de 48-79 micrómetros; abundan en los esputos y son más o menos frecuentes en las heces fecales. Los vermes adultos, generalmente se encuentran dispuestos en pares en cavidades quísticas del pulmón, abdomen (mesenterio, hígado, bazo) o el cerebro. La longevidad es alrededor de seis años (Aguilar 1,997).

3.3.2. Cercaria y Metacercaria

Las **cercarias** son de forma elipsoidal y de corta vida, tiene una minúscula cola característica en forma de muñón, su superficie corporal está recubierta de finas púas, sus movimientos en el agua se asemejan a un distoma libre, flotando y serpenteando, buscando determinados camarones y cangrejos. Se alojan en la musculatura valiéndose para ello de su aguijón perforador (Piekarski 1,961).

La **metacercaria** es la fase infectiva del parásito, se instala en el hospedero secundario, el cangrejo y vive en el hepatopáncreas. Tiene forma alargada ovoidal, y tiene movimiento ameboide. Pueden ser observados macroscópicamente, por lo que sí tienen un tamaño grande, además pueden vivir alrededor de 72 horas en tejido muerto o sobrevivir tres semanas en el agua (Soulbsby 1,987).

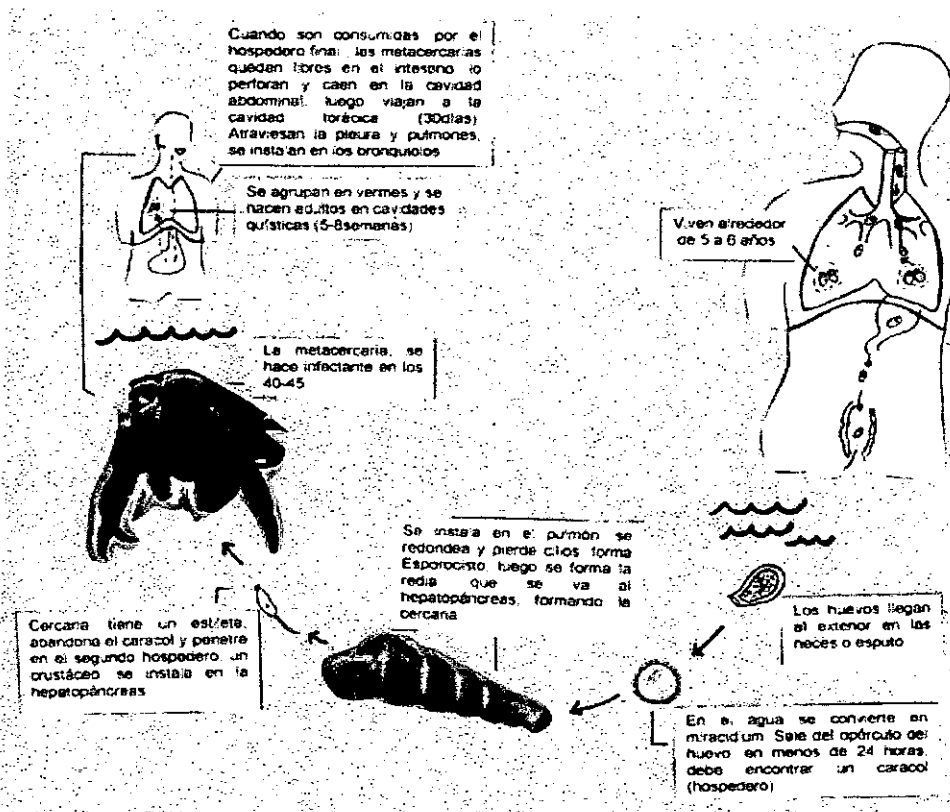
3.4. Ciclo evolutivo

Es un parásito **poliheteroxeno**, es decir que en su ciclo evolutivo utiliza dos hospederos intermediarios. Los primeros hospederos son caracoles gasterópodos pulmonados de los géneros *Brotia*, *Pomacea*, *Semisulcospira*, entre otros. Los segundos, cangrejos y langostinos de río: *Astacus*, *Potamon*, *Eriochier* y *Sesarma*, entre otros. Los hospederos definitivos son el hombre, animales domésticos como el gato, cerdo y el perro, animales silvestres, como la nutria, zorrillo, mapaches, lobos, pizotes y demás carnívoros (Aguilar 1,997).

Los **huevos** llegan al exterior en las heces o esputo. En el agua se forma el **miracidium**, que al salir del opérculo del huevo, en menos de 24 horas, debe encontrar un caracol que le sirva de hospedero, lo penetra por la cabeza o el tegumento, se instala en el pulmón, se redondea y pierde los cilios, formando el **esporocisto**.

El esporocisto se instala bajo la epidermis, forma la **redia**, se dirige al hepatopáncreas formando una fase intermedia **redia hija**; luego forma las **cercaria**, que tienen un estilete, que abandonan el caracol y penetran en el cuerpo del segundo hospedero (crustáceo), instalándose en los músculos del mismo, dando lugar a la **metacercaria**, haciéndose infectante a los 40-45 días. Cuando este hospedero es consumido por un mamífero (hospedero definitivo). Las metacercarias quedan libres (**distomas**) dentro del intestino, lo perforan y caen a la cavidad abdominal, luego viajan a la cavidad torácica (30 días). Después atraviesan la pleura y pulmones, para instalarse en los bronquiolos. Aquí se agrupan en pares de vermes y se hacen adultos de 5-6 semanas en cavidades quísticas en el interior del hospedero (Aguilar 1,997).

CICLO DE VIDA DEL GENERO *PARAGONIMUS*



3.5. HISTORIA EN AMERICA

En 1,894 Ward informó del primer caso de paragonimiasis encontrado en pulmón de perro en Norteamérica, también fue descrita en carnívoros salvajes y domésticos, así como la presencia de metacercarias enquistadas en cangrejos y langostinos de agua dulce por Nielsen (Teni 1,993).

CANADA: *P. kellicoti* ha sido registrado en provincias de Quebec y se ha demostrado parásitos en zorros y gatos así como en perros. En 1,959 fue reportado en caso humano por Beland y colaboradores (Fuentes 1,993).

E.E.U.U. Se ha registrado casos del género *P. rudis*, *P. westermani*. La mayoría de *P. kellicoti* en animales silvestres y se han encontrado hospederos intermediarios naturales. En 1982 aparece en la literatura el primer caso humano de paragonimiasis, al encontrar en un paciente, huevos de *Paragonimus* en el esputo (Fuentes 1,993).

MEXICO: En 1885, Toussaint registró distomiasis pulmonar encontrada en un cadáver. En 1,915 Lara, en Yucatán, registró paragonimiasis en emigrantes de Korea y otros nativos. En 1,961 Martínez Baez y Jimenez Galán, envían varios ejemplares de *Paragonimus* al Dr. Miyazakii en Japón, en 1,968, la especie se nombró como *P. mexicanus* (Fuentes 1,993).

HONDURAS: Se registra un caso de paragonimiasis humana en 1,966 y es reportado por Laraih quien lo atribuye a *P. westermani*. En 1,983, Brenes y Cols registran un caso de paragonimiasis cutáneo en un hombre de 31 años (Fuentes 1,993).

NICARAGUA: En 1,985, Caballeros muestra una fotografía del gusano perteneciente a *Paragonimus*, encontrada en la cámara ocular anterior de un paciente (Fuentes 1,993).

COSTA RICA: En 1,982, Brenes publica 3 casos de paragonimiasis cerebral, en dos casos se hizo el diagnóstico por autopsia. Uno de ellos mostró pericarditis eosinofílica, y el otro múltiples lesiones en hígado y pulmón, el tercer paciente el diagnóstico se hizo por estudios histológicos del material quirúrgico. En 1,985 se reporta el primer caso de un niño con tumores en el escroto, encontrándose *P. mexicanus* (Fuentes 1,993).

PANAMA: En 1,975 Miyazaki y Hendrike señalan la presencia de metacercarias de *P. caliensis* en cangrejos de este país (Fuentes 1,993).

GUATEMALA: En 1,946, Caballeros descubre en pulmones de un zorrillo (*Mephitis macroura*), y de un tacuazín (*Didelphis sp.*) varios tremátodos que identifica como *P. rudis*, en el municipio de Guazacapán, departamento de Santa Rosa y orillas del Río Moca del departamento de Suchitepéquez. Este material fue enviado a Miyazaki, quien lo reestudia y lo clasifica como *P. kellicotti* (Fuentes 1,993).

En 1,955 Aguilar identificó *P. westermanni* encontrados en un *Didelphis marsupialis*, capturado en el río María Linda (Fuentes 1,993). En 1,980 Miyazaki y Kifune señalan dos especies de cangrejos hospederos: *Pseudotelphusa cobanensis* y *P. propincus*, considerando que las especies larvarias de estos cangrejos son idénticas a las encontradas en Colima, México y pertenece a *P. mexicanus* (Teni 1,993).

En 1,986, Peñalongo, Gil Aguilar y Morera, identifican el primer caso de paragonimiasis pulmonar en un paciente procedente del área del río Los Esclavos. En 1,987, Cruz encontró tremátodos en un 51% de los cangrejos capturados en el playón del río de los Esclavos, en un estudio dirigido a describir el comportamiento del tremátodo, y así tomar decisiones en la prevención y control de esta enfermedad (Cruz 1,987).

En 1,993, Teni realizó una infección experimental de *Paragonimus* en gato doméstico, en el que demostró la presencia de *P. mexicanus*, en el área del playón del río de los Esclavos e identificó a dos de los vectores del tremátodo, el primario es *Aroapyrgus alleei* y el hospedero secundario infectante es el cangrejo *Potamocarcinus c.f. guatemalensis* (Teni 1,993). En este mismo año, Fuentes Paz, demostró la prevalencia de *P. mexicanus* en niños escolares, en esta misma área (Fuentes 1,993).

En 1,994, Pérez, utilizó el método de diagnóstico ELISA, para detectar anticuerpos de *Paragonimus* en niños y adultos, de dos poblaciones del departamento de Santa Rosa, y encontró, 10 positivos, pero no tuvo éxito para encontrar huevos de *Paragonimus* en el examen de esputo y heces fecales de estas personas (Pérez 1,994).

En 1,996, Pinillos realizó un estudio epidemiológico en el área de Santa Rosa, para determinar el porcentaje de hospederos intermediarios procedentes de Chiquimulilla, Guazacapán y Taxisco infectados con formas larvarias de *Paragonimus*, encontró un bajo porcentaje de infección en los mismos, haciendo un total del 19% de infección en 210 cangrejos observados. Encontró además un alto consumo de los mismos por los habitantes de estas áreas (Pinillos 1,996).

En septiembre de 1,999 Takeshi Agatsuma, Pinto y Monroy, con la participación de estudiantes de la Escuela de Biología de la Universidad de San Carlos y de Biología Molecular de la Universidad de Tokio, tomaron especímenes de *P. mexicanus* en cangrejos colectados, de tres regiones, dos de las cuales no habían sido estudiadas, la quebrada San José, el Renacimiento y de Coletto, todas ellas afluentes del río de los Esclavos. Se extrajo el ADN de ellos y fueron enviados al Japón para estudios de biología molecular.

3.6. Distribución geográfica

Esta especie se encuentra distribuida geográficamente en América desde Canadá, Estados Unidos, Cuba, México, Costa Rica, Panamá y Venezuela hasta Brasil (Aguilar 1,997). Ha sido reportada en humanos en Perú y Ecuador, y esporádicamente en otras ciudades. No es conocido en otro continente (Miyasaki 1,991). En Guatemala fue confirmada su presencia en 1,994 por Tongu y colaboradores (Aguilar 1,997)

3.7. Río Los Esclavos, Departamento de Santa Rosa

Según el estudio realizado por Cruz y Teni, el río de los Esclavos, localizado en el departamento de Santa Rosa, es una fuente de infección del parásito del género *Paragonimus*.

Para la presente investigación se tomaron 5 sitios de muestreo que son afluentes del río de Los Esclavos y pertenecen al Departamento de Santa Rosa:

1. El Renacimiento, es un área inundada, con poca influencia humana, el cual lleva por el mismo nombre al del caserío de la aldea Los Esclavos, del municipio de Cuilapa localizado al sur del Río de los Esclavos, con 800 MSNM. Con una latitud de $14^{\circ}15'02''$ y una longitud $90^{\circ}16'00''$. En la dieta básica de los habitantes de esta región se incluye principalmente el consumo de cangrejo (Gall 1976).
2. La quebrada de San José desagua en el río de los Esclavos, tiene una longitud de 4 kms. Se encuentra a una latitud de $14^{\circ}13'27''$ y una longitud de $90^{\circ}19'52''$. Ubicada en la aldea San José, y a la vez ubicada dentro de la Finca San José El Rosario, del municipio de Cuilapa (Gall 1976). Sus corrientes no son rápidas y tiene poca influencia humana.

3. La quebrada La Cochera, corre de oeste a este, desagua en el Río de los Esclavos y tiene una longitud de 7 kms. Esta localizada a una latitud de $14^{\circ}12'15''$ y una longitud de $90^{\circ}20'29''$. Ubicada en el cacerío El Colmenar, del municipio de Cuilapa, que se encuentra al oeste del Río de Los Esclavos (Gall 1976). Se observa contaminación en sus corrientes y tienen mucha influencia humana.
4. La quebrada El Coletto, que se origina al oeste de la Aldea El Palmar, corre de Sur a Norte y atraviesa la Finca el Jute Aguilar, donde cambia de nombre a la quebrada El Jute, para correr en dirección Noreste. Atraviesa la Aldea Guadalupe y desemboca en Los Esclavos. Tiene una longitud de 17 kms, 10 de ellos pertenece al municipio de Casillas Se encuentra a una latitud de $14^{\circ}24'44''$ y una longitud de $90^{\circ}14'27''$ (Gall 1976). Sus corrientes no son rápidas y tiene poca influencia humana.
5. El río Tapalapa, que corre de Norte a Sur. Pasa al este de la aldea San Juan Tapalapa, del municipio de Casillas, Santa Rosa y es el lindero oeste de la montaña Pueblo Viejo. Tiene una longitud de 24 kms. Se encuentra a una latitud $14^{\circ}24'31''$ y una longitud de $90^{\circ} 13'30''$. (Gall 1976). Corrientes rápidas y mucha influencia humana.

4. JUSTIFICACION

El departamento de Santa Rosa es considerada un área endémica del parásito, como lo demuestran los estudios realizados por Cruz 1,987, Teni y Fuentes en 1993, Pérez en 1,994 y Pinillos en 1996, pero se desconoce en detalle. También se conoce de la sintomatología que el parásito produce en los gatos, cuando en condiciones experimentales se les administra un alto número de metacercarias del mismo, pero se desconoce en infecciones leves. Por estas dos razones el presente trabajo pretende contribuir al estudio de la distribución del parásito en cinco afluentes de agua del río de Los Esclavos perteneciente a dicho departamento, y así poder identificar áreas geográficas que se encuentran infestadas y de esta manera poder orientar a la formulación de programas de prevención de la enfermedad que el parásito produce y que en un futuro podría ocasionar graves problemas de salud a la población, considerando las condiciones precarias en que viven. Es importante brindar mayor información del cuadro sintomatológico de la enfermedad causada por la infección de dicho parásito, para evitar un pronóstico equívoco, ya que la paragonimiasis puede ser causante hasta de la muerte en humanos y en poblaciones de animales silvestres.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

5.1.1. Determinar la presencia de *P. mexicanus* en cinco afluentes de agua del Río de Los Esclavos, Municipio de Cuilapa, Departamento de Santa Rosa.

5.2. Objetivos específicos

5.2.1. Determinar la presencia de metacercarias de *P. mexicanus* en los cangrejos colectados.

5.2.2. Determinar las regiones y afluentes que presenten mayor infección con el parásito.

5.2.3. Determinar la relación entre la infección del parásito con las características de tamaño y sexo de los cangrejos.

5.2.4. Infectar experimentalmente a gatos domésticos con metacercarias de *P. mexicanus* de por lo menos dos diferentes áreas muestreadas, para describir la sintomatología de los mismos y para futuros estudios de ADN.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1. Universo de Trabajo

Cangrejos provenientes de los siguientes afluentes del área del Río de Los Esclavos: Area del Renacimiento, quebrada San José, quebrada El Coletto, quebrada La Cochera y río Tapalapa.

6.2. Areas de muestreo

Afluentes de agua del Río de Los Esclavos, Departamento de Santa Rosa: Area del Renacimiento, quebrada San José, quebrada El Coletto, quebrada La Cochera y río Tapalapa. (Ver anexo No.1)

6.3. Recursos

6.3.1. Recursos humanos

- Estudiante de Biología: María de los Angeles Rosas
- Asesor MSc. Carlota Monroy
- Revisor MSc. Sergio Melgar

6.3.2. Recursos físicos

- Departamento de Investigación de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC
- Bioterio de la Escuela de Biología
- Departamento de Parasitología de la Facultad de Zootecnia y Veterinaria, USAC
- Departamento de Patología de la Facultad de Zootecnia y Veterinaria, USAC
- Clínica veterinaria Exótica

6.3.3. Recursos Financieros

El presente proyecto de Tesis fue financiado de la siguiente manera: Aproximadamente el 80% del mismo fueron cubiertos por el Gobierno del Japón y el 20% por la suscrita.

El monto fue aproximadamente de Q4,000.00, contando con gastos de:

- Gasolina
- Concentrado para gatos
- Reactivos y Equipo (donación del Gobierno del Japón)
- Radiografías para la disección de los gatos
- Impresión

6.4. Material y Equipo:

6.4.1. Equipo

- Jaulas
- Estereoscopio de campo
- Centrífuga
- Licuadora
- Gradillas para tubo de ensayo
- Jeringa de 30 ml
- Vaso de decantación
- Beakers
- Pinzas
- Tijeras
- Tijeras de Allis
- Pipetas Pasteur
- Tubos de ensayo y de centrífuga
- Cubreobjetos

- Agitadores
- Abatelenguas
- Frascos de vidrio para heces
- Pipetas
- Cajas de petri
- coladores
- Guantes descartables
- Goteros
- Recipientes de aluminio y vidrio
- Papel aluminio
- Bata de manga larga
- Computadora
- Cinta adhesiva
- Papel
- Lápices y marcadores
- Impresora y escáner
- Automóvil 4x4
- Gasolina
- Equipo de campo

6.4.2. Reactivos

- Concentrado para gatos
- Agua desmineralizada y potable
- Cloro
- Pomoato de pirantel
- Solución salina 85%
- Anestesia (Xylazima 10% y Ketamina 2%)

6.5. Métodos

6.5.1. COLECTA DE LOS CANGREJOS

- La colecta de los cangrejos se realizó durante los meses de septiembre a noviembre, con la ayuda de guantes de cuero, botas y cubetas con agua fresca, para así poder conservar a los cangrejos vivos y evitar su descomposición temprana. Después fueron trasladados a hieleras.
- El muestreo se realizó por medio de caminatas a lo largo del río y se colectaron todos los cangrejos vistos y vivos hasta un número mayor o igual a 12. Se realizaron durante los meses de septiembre a noviembre.
- Los cangrejos se observaron alrededor de 2- 14 horas después de su colecta, ya que según la biología del parásito estudiado, solamente vive alrededor de 48 horas dentro de un tejido muerto . Además en tejido vivo es más fácil observar las metacercarias del tremátodo.

6.5.2. LOCALIZACION DE LAS METACERCARIAS

- Se tomaron las medidas de ancho y largo en cms y se identificó el sexo de los cangrejos colectados.
- Posterior a ello, se les quitó la caparazón del dorso con el borde de una tijera de Allis y se observaron las vísceras colocadas entre dos portaobjetos con el estereoscopio, tratando de presionar de tal forma para permitir la visibilidad de las mismas. Se utilizó solución salina 85% para disolverlas.

- El cangrejo que presentó infección por metacercarias, fue totalmente macerado con la ayuda de solución salina, un extirpador y una cazuela, luego esta masa era colada por medio de un colador metálico corriente, y se procedió a observar poco a poco el líquido del macerado, para extraer todas las metacercarias posibles.



Extracción de las metacercarias

- Las metacercarias vivas fueron extraídas con una pipeta de Pasteur y colocadas dentro de pequeños frascos con solución salina, previamente identificados, para mantenerlas vivas e inocularlas después a los gatos.

6.5.3. INOCULACION EN HOSPEDEROS FINALES

- Se obtuvieron 5 gatos domésticos (*Felis domesticus*), procedentes de casas particulares de la zona 11 de la ciudad capital.
- Los gatos fueron desparasitados con pomoato de pirantel, dependiendo del tamaño y peso del animal:

>5lbs y 50 cms de longitud 10 mgrs

<5 lbs y 50 cms de longitud 5mgs

- Se colocaron en jaulas metálicas con arena desinfectada, la cual era cambiada todos los días, al igual que el alimento y el agua, para evitar contaminaciones.
- Una vez obtenidas las metacercarias, se inocularon a los gatos, mezcladas con la comida (pescado blanco o pollo), luego se les dió de beber agua filtrada, para arrastrar las metacercarias al estómago. El número de metacercarias inoculadas dependió del total de metacercarias encontradas en los cangrejos colectados, así como de la edad y tamaño de los gatos.



Inoculación de las metacercarias

- Se inició el conteo de días post-inoculación, anotando reacciones y síntomas de los gatos.

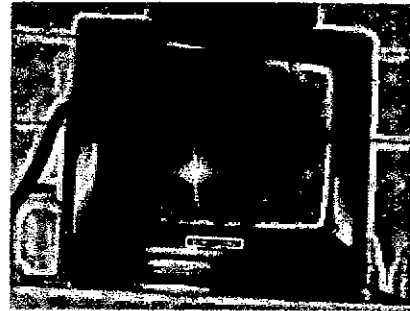
6.5.4. NECROPSIA DE LOS GATOS

- Después de ocho semanas de inoculación de las metacercarias , los gatos infectados fueron preparados individualmente para la disección, para lo que se dejaron sin alimento por lo menos durante unas 5 horas.
- Cada gato fue anestesiado con Xylazima 10% y Ketamina 2%.

- Luego fueron rasurados del pelo, para realizar una radiografía del mismo, en el área pulmonar y así poder localizar los quistes y el área de disección.
- Se realizó un corte pequeño, para introducir el troker o cámara y observar los quistes, a través del monitor del equipo de Laparoscopia.



Inserción de la cámara



Localización de los quistes

- Una vez localizados los quistes, se procedió a la extracción de los mismos, para luego extraer los gusanos adultos del *P. mexicanus* y describirlos.
- Se procedió a eutanasiar a los gatos.

6.5.5. ANALISIS ESTADISTICOS

- El análisis de datos se realizó por medio de una estimación de la media por un intervalo de confianza del No. de metacercarias por cangrejo y una estimación de la proporción de cangrejos infectados de las diversas áreas muestreadas
- Para observar la diferencia de cangrejos infectados entre los lugares muestreados, se realizó una prueba de homogeneidad.

- Para observar la diferencia de cangrejos infectados entre los lugares muestreados, se realizó una prueba de homogeneidad.
- Para conocer si la distribución de las metacercarias de los cangrejos es al azar o agrupada, se elaboró una prueba de bondad de ajuste, para observar si sigue la distribución de Poisson.
- Para conocer la relación del ancho y el largo de los cangrejos con respecto a la probabilidad de infección de los mismos, se elaboró una T de student.
- Para determinar si la probabilidad de infección es independiente o no respecto al sexo de los cangrejos, se realizó una prueba de independencia.

7. RESULTADOS

La colecta de cangrejos, que es la primera etapa del presente estudio, se realizó en 5 diferentes afluentes del río de los Esclavos. Se colectó un total de 312 ejemplares de cangrejos (Cuadro No. 1). La determinación taxonómica de los mismos aún queda pendiente, los especímenes fueron enviados a Costa Rica para su determinación.

Se anotaron las características de ancho, largo y sexo de cada cangrejo (Ver anexo 2).

En los cangrejos observados se comprobó la presencia de *P. mexicanus*. Y se encontró 58 cangrejos infectados y 206 metacercarias en total (Cuadro No.1). Únicamente en el área de San José se observó también en los cangrejos infectados y no infectados de *P. mexicanus* con un innumerable número de metacercarias, en forma circular de otra especie de tremátodo enquistado, el cual no ha sido identificado.

Cuadro No. 1 No. de cangrejos infectados y No. de metacercarias en los cinco afluentes del río de los Esclavos

AREA	TOTAL DE CANGREJOS	CANGREJOS INFECTADOS	NO. DE METACERCARIAS
Renacimiento	88 (28.20%)	23 (39.65%)	114 (55.34%)
San José	83 (26.60%)	18 (31.03%)	37 (17.96%)
Coletó	71 (22.75%)	9 (15.52%)	18 (8.74%)
La Cochera	42 (13.46%)	4 (6.90%)	4 (1.94%)
San Juan Tapalapa	28 (8.97%)	4 (6.90%)	33 (16.02%)
Total	312 (100%)	58 (18.59%)	206 (100%)

En el análisis de datos se estimó la media del No. de metacercarias por cangrejos, y la estimación del porcentaje de cangrejos infectados en las cinco diferentes áreas (Cuadro No.2).

Cuadro No. 2 Estimación de la media del No. metacercarias/cangrejos y estimación del lugar para el porcentaje de cangrejos infectados por área

AREA	MEDIA DE METACERCARIAS/CANGREJOS	PORCENTAJES DE CANGREJOS INFECTADOS
Renacimiento	4.95 ± 2.54	26% ± 3.73%
San José	2.05 ± 0.73	21.68% ± 21.5%
Coletto	2 ± 1.31	12.68% ± 21.7%
La Cochera	1 ± 0	9.52% ± 28.8%
San Juan Tapalapa	8.23 ± 4.69	14.29% ± 33.90

No se encontró diferencia significativa entre los cinco lugares muestreados respecto a la cantidad de cangrejos infectados con *P. mexicanus* (χ^2 , $p=0.0879$).

Se establecieron intervalos para agrupar los cangrejos que presentaron metacercarias de *P. mexicanus* con respecto al grado de infección. Las frecuencias fueron comparadas con la distribución de Poisson, la cual se basa en una distribución al azar. Y se encontró que la distribución de metacercarias por cangrejo infectado no es al azar ($p < 0.005$). Se concluye que la distribución es agrupada, porque la relación de la varianza dentro de la media es mayor que uno ($8.805 > 1$). Es decir que existe una alta probabilidad de encontrar más metacercarias en un sólo cangrejo infectado. (Cuadro No. 3).

Cuadro No. 3 Distribución de Poisson

NO. DE METACERCARIAS	NO. DE CANGREJOS OBSERVADOS	NO. DE CANGREJOS ESPERADOS
0	254	161
1	30	106
2	6	35
3	22	9

Se determinó que el sexo no es una característica influyente en la probabilidad de infección en un cangrejo (χ^2 , $p=0.68$) Ver cuadro No.4

Cuadro No. 4 Cangrejos infectados respecto al sexo

SEXO	INFECTADOS	NO INFECTADOS	TOTAL
Femenino	20 (17.9%)	95 (82.6 %)	115
Masculino	38 (19.3%)	159 (80.7%)	197
Total	58 (18.59%)	254(81.41%)	312

Se encontró que el ancho no difiere significativamente de los cangrejos infectados de los no infectados (T , $p= 0.1282$) . Sin embargo el largo si resultó ser una variable significativamente influyente en la infección de los cangrejos. Los cangrejos infectados tienen un menor largo que los no infectados (T , $p=0.038$).

La infección experimental de los gatos se presenta en el siguiente cuadro:

CUADRO No. 6 Infección de los gatos con metacercarias de *P. mexicanus*

NO	INFECTADO	EDAD	LARGO	PESO	NO. METACERCARIAS INOCULADAS	TIEMPO DE INFECCIÓN (SEMANAS)	NO. GUSANOS ADULTOS OBTENIDOS	LOCALIZACIÓN (PULMÓN)
1	15-9-99	3 meses	30 cms	6lbs	15 Renacimiento	72 días (10)	10	p. derecho
2	15-9-99	5 meses	25 cms	5lbs	7 Renacimiento	88 días (12)	8	p. izquierdo
3	15-9-99	5 meses	30 cms	5lbs	10 Renacimiento	82 días (11)	12	p. derecho
4	17-9-99	5 meses	30 cms	5lbs	11 San José	42 días (6)	0	**
5	28.10.99	5 meses	30cms	6lbs	12 San José	71 días (10)	10	p. derecho

**murió antes del tiempo final de infección

De los cinco gatos infectados, dos presentaron los síntomas provocadas por el parásito (gato No. 4 y 5) los cuales son: Tos severa, esputo sanguinoliento, falta de apetito, disminución de su actividad física, debilidad, deseo excesivo de consumir agua. El gato No. 4 murió y no llegó al tiempo final de infección. El gato No.5 con los otros tres restantes (gato No. 1, 2 y 3) sí concluyeron con el tiempo final de infección que son alrededor de ocho semanas, pero estos últimos no presentaron síntomas, pero sí se encontraron infectados. En el pulmón derecho se encuentran la mayoría de tremátodos adultos de *P. mexicanus*.

Los gatos fueron disectados usando laparoscopia, la cual fue bastante adecuada para la localización y extracción de los quistes, para luego extraer los vermes adultos obtenidos por la infección. Los quistes son de color rojo-café, con pequeñas formaciones cóncavas en donde se localizaron los vermes en pares, los cuales son del mismo color y un tamaño aproximado de 6mm. El promedio de gusanos adultos recuperados en los cuatro gatos fue de 10 gusanos/gato.

8. DISCUSION DE RESULTADOS

La importancia de estudiar la presencia de *P. mexicanus* en crustáceos del área del río de los Esclavos, se debe a que allí detectó el primer caso humano autóctono de paragonimiasis en 1,986. El paciente había ingerido crustáceos mal cocidos de dicha área, lo cual afectó su salud y capacidad productiva (Pinillos 1,996).

En la presente investigación se comprobó la presencia de *P. mexicanus* en cangrejos de cinco diferentes afluentes del río de los Esclavos, Renacimiento, San José, Coletto, La Cochera y San Juan Tapalapa. Dicha colecta se llevó a cabo en los meses de septiembre a noviembre de 1,999. Se tuvo dificultades en la obtención de los animales por falta de experiencia en su captura y por las condiciones del clima como: la lluvia, que provocó que los afluentes de agua crecieran y los cangrejos migraran a lugares con menor corriente, como los cafetales y siembras que generalmente rodean los afluentes, los vientos fríos hicieron que los cangrejos se refugiaran en cuevas subacuáticas formadas por grandes rocas o se enterraran entre los terrenos aledaños.

Los cangrejos de río son muy rápidos y se escapan con suma facilidad, lo que también ocasionó problemas en la colecta y al igual que los anteriores problemas intervinieron en el número de la muestra.

La mayoría de los cangrejos fueron colectados en las tres áreas siguientes: Renacimiento (88 cangrejos), San José (83 cangrejos) y Coletto (71 cangrejos). La razón de ello es la accesibilidad a los terrenos y que las corrientes de agua no son muy rápidas como sucedió con los otros dos afluentes La Cochera (42 cangrejos) y San Juan Tapalapa (28 cangrejos).

También se considera que el mayor número de colecta en las áreas del Renacimiento, la quebrada de San José y la quebrada, se deba a las características aledañas a sus corrientes, abundante vegetación, además no se encuentran contaminadas y la intervención humana es muy escasa. Los habitantes ocasionalmente van al lugar a capturar cangrejos para su consumo.

Por el contrario, las áreas de La Cochera y San Juan Tapalapa, hay mayor influencia humana y las aguas se ven afectadas por la contaminación, no solamente de desechos sólidos sino también del ruido, por lo que es probable que los cangrejos prefieren buscar mayores profundidades para vivir, así como migrar a lugares mucho más rocosos y tranquilos, en donde es casi imposible el acceso.

El parásito se encontró en los cinco lugares muestreados, siendo el área del Renacimiento, la de mayor porcentaje de infección (39.65%). La Cochera y San Juan Tapalapa, las áreas de menor porcentaje de infección (6.90%). Estas dos últimas coinciden en que son áreas contaminadas, con gran influencia humana. Posiblemente hay menor infección porque se interrumpe el ciclo natural por la ausencia de animales silvestres.

Estos resultados muestran que se deben tomar medidas adecuadas ante tal situación, ya que puede tener consecuencias en los habitantes de la población. Debe informarse del riesgo que corren de contraer la enfermedad (paragonimiasis) que este parásito produce, a causa del consumo de cangrejos mal cocidos o crudos, ya que se tiene conocimiento que los niños de estas áreas comen el cangrejo crudo en las épocas de muda del cangrejo, llamándoles "cangrejos de leche", porque la caparazón es suave y blanca. Además se debe dar a conocer e investigar la sintomatología de dicha enfermedad en humanos, pues su diagnóstico se confunde con la tuberculosis y puede causar hasta la muerte.

Se considera que este cangrejo es una variedad guatemalteca distribuida en todas las vertientes de agua dulce del territorio guatemalteco, perteneciente al género *Potamocarcinus* sp. (Teni 1,993), pero no existe un conocimiento preciso del cual se haya extraído esta información taxonómica, por lo que es conveniente hacer estudios de poblaciones de crustáceos para verificar el género y especie de dichos cangrejos, así como capacitar guatemaltecos que ayuden a la determinación taxonómica del mismo.

El número de cangrejos infectados fue de 58 cangrejos (18.59%), con 206 metacercarias de *P. mexicanus*, este dato difiere con el resultado obtenido en 1,993 (Teni 1,993), que fue de 84 cangrejos infectados (36.06%), con 382 metacercarias. Probablemente la diferencia se deba al número de muestreo por la época del año en que se realizó la misma, la cual fue realizada en el mes de julio, mientras que la presente investigación se realizó en los meses de septiembre a noviembre.

El área de mayor número de metacercarias de *P. mexicanus* encontradas fue la del Renacimiento (114) y la de menor número fue La Cochera (4).

Se observó que las metacercarias de *P. mexicanus* tienen forma ovoide, con movimientos circulares, son relativamente grandes, pues muchas veces se pueden observar a simple vista (2-3mm).



Metacercarias de *P. mexicanus*

Los cangrejos colectados oscilaron en 0.8 cms hasta 8.0 cms de ancho y de 0.6 cms a 5 cms de largo en las tallas del cefalotórax (Ver anexo 2). Las medias de los cangrejos infectados es de 2.4 de ancho y 1.6 de largo. Es decir, que los cangrejos infectados eran relativamente más cortos, lo que nos indica que la infección con metacercarias de *P. mexicanus*, tiene una influencia directa en el tamaño del hospedero.

Se estudió por medio de una prueba T, la relación de infección de metacercarias con respecto al ancho y largo de los cangrejos, obteniendo una $p=0.1282$ en el ancho, lo que indica que no afecta significativamente la infección de los cangrejos, pues es una medida muy variable y $p=0.038$ en el largo, el cual se mantuvo más constante, y sí influyó significativamente la probabilidad de infección en los cangrejos. Es decir que los cangrejos mayormente infectados, son de menor largo.

Es posible que los cangrejos pequeños, sean más propensos a ser infestados por este parásito, por la facilidad de introducción dentro de caparazones más suaves que las que normalmente tienen cangrejos que alcanzan tamaños mayores de 9-12cms de largo y ancho respectivamente.

Se demostró la relación entre metacercarias y total de cangrejos, y se comprobó que la distribución de metacercarias en el cangrejo, no sigue la distribución de Poisson. Se encontró que las metacercarias se distribuyen en forma agrupada (χ^2 , $p < 0.005$), es decir que los cangrejos infectados tienen varias metacercarias. En especial se nota una deficiencia de cangrejos con una sola metacercaria y exceso de más de 3. Posiblemente se deba a que las fuentes de infección sean localizadas y que cuando un cangrejo encuentra parásitos, los encuentre en grupos. Otra posibilidad es que algunos cangrejos sean más susceptibles al ataque y entonces son invadidos por varios parásitos simultáneamente. Otra explicación es que las redias cuando salen del primer hospedero (molusco) lo hacen en forma explosiva, es decir, en gran cantidad.

Se determinó que no existe diferencia significativa entre el sexo de los cangrejos (17.9% machos y 19.3% hembras), y el porcentaje de infección ($p=0.68$). Estos resultados difieren con la investigación realizada en 1,987, en la que se colectó un total de 108 cangrejos, de los cuales , 51 resultaron positivos. El porcentaje de infección fue de 37% hembras y 55% machos, comprobando que la infección es mayor en machos (Cruz 1987).

Los resultados obtenidos nos muestran que posiblemente la población humana es la menos afectada por el parásito. Sin embargo se considera que la población animal silvestre sí lo esté, especialmene aquellos animales que incluyen en su dieta crustáceos, como el caso del mapache, tacuazín, gato de monte, zorra, urón, perico ligero y pizote. Es importante mencionar que durante la colecta, se observó en ocasiones distintas huellas de mapache a los alrededores de los afluentes de agua, como San José. Así mismo se observaron cangrejos totalmente destazados y lesionados fuertemente, y por la forma en que se encontraron se considera ataques por depredadores naturales, que generalmente son animales silvestres. Como ya se hizo mención, los lugares de mayor número de colecta son aquellos que no tienen mucha influencia humana y se encuentran rodeados de vegetación más espesa, por lo que las visitas de los animales silvestres han de ser mayores. Por otro lado la infección de mayor porcentaje por metacercarias de *P. mexicanus* se presenta en cangrejos de menor tamaño, los cuales resultan ser presa fácil para los depredadores, por ser menos ágiles, algo que el hombre no hace, ya para su consumo prefieren cangrejos de mayor tamaño, los cuales se ven menos afectados por el parásito.

Con relación a la infección experimental de los cinco gatos por metacercarias vivas y en buen estado, se observó dos gatos infectados, presentaron síntomas: Uno de ellos murió y el otro llegó a la etapa final de infección, junto con los otros tres restantes, los cuales no presentaron síntomas. Los síntomas en ambos animales fueron similares, tos severa, falta de apetito, debilidad, consumo solamente de agua y somnolencia. El área interna adyacente a los pulmones presentaban moretones visibles que correspondían al daño causado por el parásito.

Se notó que los dos gatos que presentaron síntomas, fueron infectados con metacercarias de cangrejos provenientes del área de San José. Los datos obtenidos son similares a los encontrados por otros investigadores (Teni 1,993). Este investigador infectó gatos con metacercarias provenientes de cangrejos de la misma área, los cuales no llegaron a la fase de infección final, presentando tos, esputo sanguinolento, falta de apetito, entre otros síntomas. Estos gatos fallecieron aproximadamente a la 6ta. Semana. Por esto se considera que las metacercarias provenientes de cangrejos de San José, son más agresivas, que la perteneciente a la otra área (Renacimiento). Posiblemente se trate de una selección natural de una cepa con mayor patogenia ó de una asociación de huésped parásito muy detrimental.

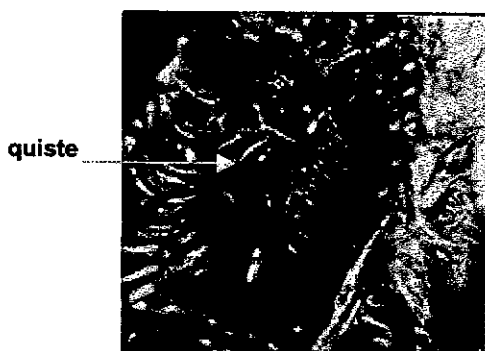
La cantidad de metacercarias inoculadas (7-15) en la infección experimental de los gatos, fue adecuada para que se pudiera concluir con el tiempo de infección final. Investigaciones anteriores muestran que el uso de 75 metacercarias de *P. mexicanus*, es muy detrimental como inóculo (Teni 1,993).

Los gatos fueron disectados en forma adecuada, pues se utilizó el método de laparoscopia, lo que permitió en gran manera la localización exacta de los quistes, por medio de la cámara y con la ayuda de las radiografías tomadas a cada gato.

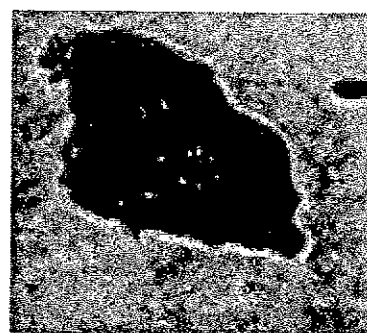
La intención de realizarlo así fue en primer lugar la de tomar experiencia en la localización y extracción de los quistes en animales, que posteriormente puede tratarse de un animal silvestre e inclusive de humanos. Otro motivo de realizarlo así, era poder salvar a los gatos, pero por falta de atención adecuada en la forma de administración del anestésico, no sobrevivieron. Además se encontraron seriamente afectados de los pulmones, por lo que se consideró no conveniente su sobrevivencia.

Se extrajeron los quistes de los gatos disectados, los cuales eran de color café-rojizas brillantes de aproximadamente 2.0-2.5 cms de diámetro, se encuentran principalmente en los lóbulos basales y tienen especial preferencia por el pulmón derecho. La preferencia del parásito se debe posiblemente a la cercanía del hígado, por donde migran los parásitos jóvenes en su tránsito hacia el pulmón (Teni 1,993).

Además forman pequeñas cavidades cóncavas en las que se encuentran localizadas en parejas los vermes adultos de *P. mexicanus*, que son de color café-rojo brillantes, de una longitud aproximada de 6mm, largos y gruesos, movimientos lentos.



Quiste dentro del pulmón del gato



Quiste extraído

9. CONCLUSIONES

1. El presente estudio detectó la presencia del tremátodo plateminto *P. mexicanus* en cinco afluentes pertenecientes al río de los Esclavos, municipio de Cuilapa, departamento de Santa Rosa, que son: área del Renacimiento, quebrada de San José, quebrada El Coletto, quebrada La Cochera y río San Juan Tapalapa. En los tres últimos afluentes aún no se conocía la existencia del parásito.
2. La metodología propuesta en el trabajo de investigación para la captura de los cangrejos es apropiada, pero la época de colecta no (septiembre a noviembre), debido a que las corrientes de agua de los afluentes se encuentran muy frías y profundas por los vientos fríos y lluvias, por lo que los cangrejos probablemente migran a lugares más recónditos, lo cual no facilita su captura.
3. El porcentaje mayor de infección de cangrejos colectados en las diversas áreas, lo presenta el área del Renacimiento (39.65%) y los más bajos fueron La Cochera y San Juan Tapalapa (6.90%).
4. El porcentaje mayor de metacercarias fue de cangrejos provenientes del área Renacimiento (55.34%), área con poca influencia humana y el más bajo fue La Cochera (1.94%), posiblemente debido a la influencia humana. Lo que nos indica que la infección proviene de animales silvestres.

5. El total de cangrejos colectados fue de 312, de los cuales 58 de ellos se encontraron infectados, lo que equivale a un porcentaje de infección total de 18.59 %.
6. Los cangrejos que presentaron mayor infección de metacercarias oscilan dentro de 1.4-2.6 cms de largo y ancho respectivamente.
7. Los cangrejos más infectados presentan un menor largo ($p=0.038$).
8. El ancho no presenta diferencia significativa en la infección de los cangrejos ($p=0.1282$).
9. La distribución de las metacercarias es agrupada ($P < 0.005$), hay un exceso de cangrejos no infectados y de cangrejos con múltiples parásitos.
10. No existe diferencia significativa entre la relación de sexo e infección ($p=0.68$).
11. Los síntomas de la enfermedad provocada experimentalmente en los gatos por medio de metacercaria de *P. mexicanus*, varían de acuerdo a la procedencia de las metacercarias y probablemente al número de metacercarias inoculadas.
12. Las metacercarias provenientes de cangrejos infectados del área de San José, se consideran más agresivas o patogénicas por la presencia temprana de la sintomatología y por la mortalidad causada.
13. En la inoculación artificial de los gatos, el número de metacercarias inoculadas (7-15), se considera una cantidad adecuada para permitir finalizar el tiempo de infección del parásito *P. mexicanus*, y así poder extraer los vermes adultos del mismo.

14. La infección humana por *P. mexicanus* es baja, sin embargo se considera que las poblaciones de animales silvestres sí pueden encontrarse seriamente afectados por el parásito.

15. Los resultados demuestran que el río de los Esclavos es un área endémica de Paragonimiasis.

10. RECOMENDACIONES

1. Es necesario continuar estudiando otros afluentes de agua del Río de los Esclavos, para conocer si existe *P. mexicanus* y poder conocer su distribución.
2. Informar a los pobladores del área por el peligro que corre debido a los malos hábitos alimenticios.
3. Hacer estudios con la población animal silvestre del área, para conocer si se encuentra afectada por la enfermedad que provoca el parásito.
4. Es recomendable hacer estudios moleculares para validar la determinación taxonómica del parásito encontrado en las diferentes áreas.
5. Se recomienda realizar una investigación respecto a la asociación entre la cantidad de metacercarias de *P. mexicanus* y la contaminación de los afluentes.
6. Es necesario formar profesionales guatemaltecos en la determinación taxonómica de crustáceos de agua dulce.

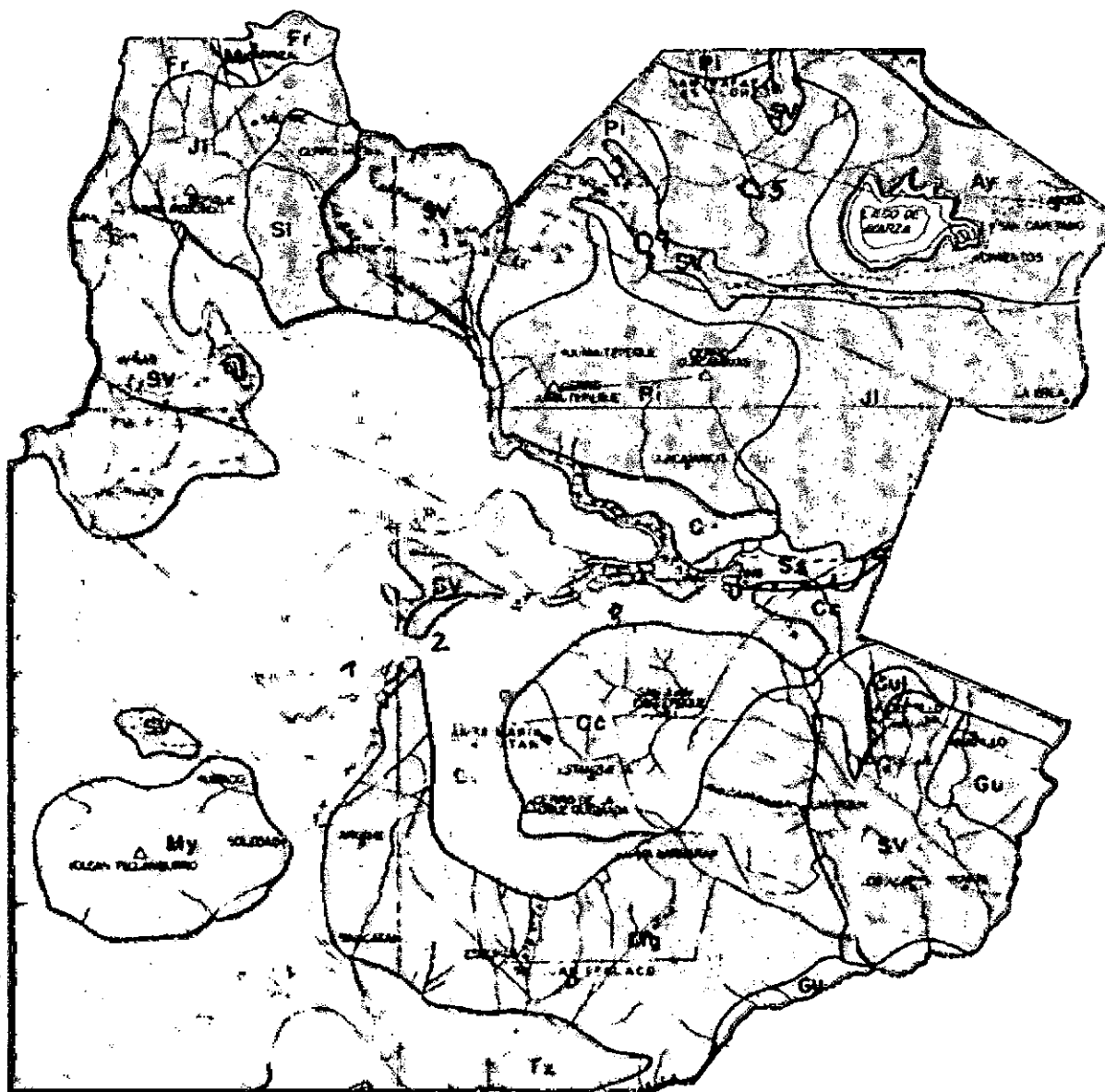
12. REFERENCIAS

1. Aguilar, F. 1,997. Parasitología Médica. Litografía Delgado S.A. 3ra. Edic. Guatemala. p. 364
2. Beaver, Faust & Jung. 1,968. Animal Agents and vectors of human disease. 3ra. Edic. Lea & Febiger. Filadelfia. p.461
3. Benbrook & Sloss. 1,965. Parasitología clínica veterinaria. 3ra. Edic. México D.F. p. 256
4. Castillo C. García J. 1,953. Atlas Político Administrativo de la República de Guatemala. 1era. edic. Ministerio de Educación Pública. p. 22-23
5. Cruz, M. 1,987. Determinación de Larvas de *Paragonimus sp.* en crustáceos en el área del Río de los Esclavos, Municipio de Cuilapa, Departamento de Santa Rosa. Tesis Méd. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Médicas. p. 41
6. Fuentes Paz, B. 1,993 .Prevalencia de *Paragonimus sp.* en niños escolares de la región del Río de los Esclavos, Municipio de Cuilapa, Santa Rosa. Guatemala. Tesis Méd. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. p. 32
7. Gall.F. 1,976. Diccionario Geográfico de Guatemala. Tomo I- IV. Guatemala C.A.
8. Lopretto, E. 1,995. Ecosistemas de aguas continentales. Tomo II. Editorial Sur. Argentina. p. 895.
9. Lumsden, R. & Sogandares F. 1,970. Journal of Parasitology. Ultraestructural manifestation of pulmonary paragonimiasis. 56:p. 1,095-1,109
10. Mille, S. Parra, M & Pérez, A. 1,993. Guía para la identificación de invertebrados. Editorial Trillas. México. p. 465

11. Miyasaki, I. 1,991. Helminthic Zoonosis. International Medical Foundation of Japan. Japón. p. 494
12. OMS. 1,993. Lucha contra la trematodiasis. Ginebra. p. 91
13. Pérez, E. 1,994. Determinación de *Paragonimus* en habitantes de dos poblaciones aledañas al Río de los Esclavos. Tesis Méd. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas. p. 41
14. Pinillos, H. 1,996. Estudio epidemiológico de los hospederos intermediarios de *Paragonimus*, en el Departamento de Santa Rosa. Tesis Méd. Guatemala, Universidad Fco. Marroquín, Facultad de Medicina. p. 52
15. Sadum, E. & Buck, A. 1,953. Paragonimiasis in South Korea Immunodiagnostic, Epidemiological, Clinical, Roetgenologic and Therapeutic Studies. Am J Trop Med Hyg; 8: p. 562-597
16. Sociedad Mexicana de Parasitología. Memorias. Zoonosis Parasitaria. 1,991. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina, Veterinaria y Zootecnia. División de Estudios de Postgrado. Departamento de Parasitología. México. p.233 .
17. Soulsby, J. 1,987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Edición Interamericana. 7a. Edic. México. p. 823
18. Stromberg, P. & Dubey, P. 1,978. Journal of Parasitology. The cicle of *P. kellicotti* life in cats. USA. 64: p. 998-1002
19. Teni, R. 1,993. Paragonimiasis experimental en gato doméstico *Felis catus* Determinación de hospederos intermediarios y clasificación de *Paragonimus* en el Río de los Esclavos, Municipio de Cuitapa, Santa Rosa. Tesis Méd. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Médicas. p. 66

12. ANEXOS

1. Afluentes de Agua del Río de Los Esclavos en el Departamento de Santa Rosa, Cuilapa



1. Quebrada La Cochera
2. Quebrada San José
3. El Renacimiento

4. Quebrada El Coletto
5. Río Tapalapa

2. Tablas de las características anotadas de los cangrejos colectados

RENACIMIENTO

No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. Metacercarias.	No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. Metacercarias	No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. Metacercarias
1	F	3.1	2	0	0	33	M	2.8	1.9	1	0	65	M	2.1	1.6	0	0
2	F	3	2	0	0	34	F	3.3	2	0	0	66	F	3	1.9	1	1
3	F	2.2	1.7	0	0	35	F	3.1	2	0	0	67	M	2.3	1.9	1	1
4	M	2.3	1.6	0	0	36	F	2.9	1.8	0	0	68	F	3.2	2	0	0
5	M	3.1	2	0	0	37	M	3.2	2.1	0	0	69	M	2.8	1.8	1	1
6	F	3	2	0	0	38	F	2.6	1.9	1	6	70	F	2.7	1.7	0	0
7	M	2.7	1.8	0	0	39	M	2.4	1.6	0	0	71	F	2.4	1.6	1	1
8	M	3.1	2	0	0	40	M	2.4	1.5	1	4	72	M	2.7	1.8	1	5
9	F	3.3	2	1	1	41	M	2.3	1.4	0	0	73	M	2.3	1.5	0	0
10	M	2.4	1.5	1	14	42	M	2.2	1.4	0	0	74	M	1.9	1.4	1	1
11	M	2.4	1.7	1	29	43	M	2.2	1.5	1	0	75	F	2.3	1.5	0	0
12	M	2.3	1.5	0	0	44	F	2.6	1.6	1	7	76	M	2.7	1.6	0	0
13	M	2.5	1.6	0	0	45	F	2.3	1.5	1	6	77	M	2.9	1.8	0	0
14	F	3.1	2.2	0	0	46	F	2.9	1.8	0	0	78	M	1.8	1.2	0	0
15	F	3.3	2.2	0	0	47	M	2.2	1.4	0	0	79	M	2.1	1.4	1	1
16	F	3.2	2	0	0	48	M	2.3	1.5	0	0	80	F	2.2	1	0	0
17	F	3.9	2.4	0	0	49	M	3.2	2	1	9	81	M	3.7	1.2	1	3
18	M	3.5	2.2	0	0	50	F	2.9	2	0	0	82	M	3	1.9	1	4
19	F	2.6	1.7	1	1	51	M	3.1	2.1	1	0	83	F	2.8	1.9	1	1
20	M	2.4	1.6	1	0	52	M	2.5	1.5	0	0	84	M	3	2.1	0	0
21	M	2.4	1.5	0	0	53	F	2.8	1.8	1	1	85	F	2.4	1.7	0	0
22	M	2.5	1.5	1	0	54	M	3.1	2	0	0	86	F	3.6	2.2	0	0
23	M	2.4	1.6	0	0	55	F	2.9	1.9	0	0	87	M	2.6	1.2	0	0
24	F	2.7	1.8	0	0	56	M	2.4	1.5	1	1	88	F	2.9	1.8	0	0
25	M	2.3	1.7	0	0	57	M	2.2	1.4	0	0						
26	F	2.5	1.9	0	0	58	M	2.3	1.4	1	5						
27	M	2.3	1.5	1	0	59	M	2.3	1.5	0	0						
28	M	2.6	1.9	0	0	60	M	2.5	1.8	0	0						
29	M	3	1.8	0	0	61	M	2.3	1.6	1	6						
30	M	2.8	1.9	1	0	62	M	2.9	1.8	0	0						
31	F	2.7	1.8	0	0	63	M	2.3	1.5	1	6						
32	F	2.8	1.9	0	0	64	M	2.2	1.4	0	0						

SAN JOSE

No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. Metacercarias	No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. Metacercarias	No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. Metacercarias
1	M	2.4	1.5	0		33	F	1.6	1	0		65	F	1.9	0.7	0	
2	M	2.1	1.3	1	1	34	F	3	1.6	0		66	M	1.3	0.7	0	
3	M	2.3	1.4	1	1	35	M	2.8	1.6	0		67	M	1.9	1	0	
4	M	2.3	1.5	0		36	M	3	1.8	0		68	M	4.5	3	0	
5	F	2.2	1.4	1	2	37	M	3	2	0		69	M	2	1	0	
6	M	2.3	1.5	1	6	38	F	3	2	0		70	M	2.3	1.3	0	
7	F	2.5	1.4	0		39	M	3.1	2	0		71	M	2.1	1.2	0	
8	M	2.2	1.5	0		40	M	3.5	2	0		72	M	2.2	1.4	0	
9	M	1.5	0.9	0		41	F	3.2	2.2	0		73	M	3.5	1.8	0	
10	M	3.2	2	0		42	M	3.1	1.9	0		74	M	2.5	1.4	0	
11	M	2.8	1.7	1	1	43	M	3.1	2.2	0		75	M	2.6	1.4	0	
12	M	2.5	1.5	1	1	44	M	2.9	1.9	1	2	76	M	2.1	1.5	0	
13	M	2.2	1.7	1	1	45	M	3.1	2	1	2	77	M	2.3	1.4	0	
14	F	2.4	1.5	1		46	F	3.3	2.2	1	2	78	M	1.6	0.7	0	
15	F	3.9	1.9	0		47	M	3	1.9	1	1	79	M	2.7	1.3	0	
16	M	3	2	1	3	48	F	2.6	1.6	1	1	80	M	1.8	0.8	0	
17	M	2.5	1.6	0		49	F	2	1	1	1	81	M	1.9	1	0	
18	M	3.5	2.2	1	3	50	F	3.1	1.7	0		82	M	1.2	0.7	0	
19	M	2.1	1.5	0		51	F	3.3	1.2	0		83	M	1.7	1	0	
20	M	1.6	1	0		52	F	3.2	1.5	0							
21	F	1.6	1.1	0		53	F	2.9	1.6	0							
22	M	1.5	0.9	0		54	F	1.5	0.7	0							
23	F	3.1	1.8	1	6	55	F	1.4	0.7	0							
24	F	1.3	1	0		56	F	2.9	1.6	0							
25	M	2	1.1	0		57	F	2.3	1.5	0							
26	F	3.4	2.1	1	1	58	F	2.6	1.4	0							
27	M	3.8	2	1	2	59	F	2.9	1.7	0							
28	M	2	1.4	0		60	F	3.1	1.7	0							
29	M	1.4	2.1	0		61	F	3.6	1.9	0							
30	F	1.5	0.9	0		62	F	3.5	1.7	0							
31	F	2	1.1	0		63	F	1.9	0.9	0							
32	F	2.6	1.9	0		64	F	1.8	0.8	0							

COLETO

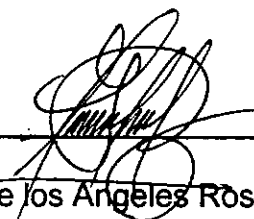
No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. metacercarias	No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. metacercarias
1	M	2.8	1.7	0		36	F	1.3	0.8	0	
2	M	2.8	1.8	0		37	M	1.5	1	0	
3	M	2.7	1.7	1	6	38	F	1.7	1.1	0	
4	M	2.8	1.8	0		39	M	2.1	1.5	0	
5	M	2.5	1.6	1	1	40	F	3	2.3	0	
6	M	2.7	1.7	0		41	M	2.6	1.9	0	
7	M	2.3	1.5	1	1	42	M	1.1	0.9	0	
8	M	2.5	1.7	0		43	F	1.1	0.9	0	
9	M	2.5	1.7	0		44	M	1.1	0.9	0	
10	M	2.4	1.6	0		45	F	0.9	0.6	0	
11	M	1.9	1.4	0		46	M	1.1	0.9	0	
12	F	2.5	1.6	0		47	M	1.2	1	0	
13	M	2.3	1.5	0		48	F	1.5	1	0	
14	M	1.8	1.4	0		49	M	1.1	0.6	0	
15	M	3.2	2	1	1	50	F	2.2	1.5	0	
16	M	2.5	1.6	0		51	M	2.3	1.6	0	
17	M	2.5	1.6	0		52	F	2.4	1.5	0	
18	M	2.9	1.9	1	1	53	M	2.5	2	0	
19	M	2.3	1.6	0		54	M	2	1	0	
20	M	2.5	1.7	1	1	55	F	2.8	1.9	0	
21	M	2	1.4	0		56	M	1.5	1.1	0	
22	M	2.5	1.6	1	5	57	M	1.2	0.7	0	
23	F	2.1	1.4	1	1	58	M	1.5	1	0	
24	M	1.2	0.9	0		59	M	1.2	0.9	0	
25	M	1.1	0.9	0		60	M	1.5	0.9	0	
26	F	1.1	0.9	0		61	M	1.5	1	0	
27	F	1	0.7	0		62	M	1.1	0.9	0	
28	F	2.5	1.6	0		63	M	1.6	1.1	0	
29	M	3	2	1	1	64	M	1.3	1.1	0	
30	F	1.1	0.7	0		65	F	1.9	1.2	0	
31	M	1	0.6	0		66	F	1.9	1.2	0	
32	M	1.1	0.7	0		67	M	1.6	1.3	0	
33	F	1	0.7	0		68	M	1.9	1.3	0	
34	F	1.2	0.8	0		69	M	2.2	1.3	0	
35	M	0.8	0.6	0		70	M	2	1.5	0	
						71	M	2.6	1.6	0	

TAPALAPA

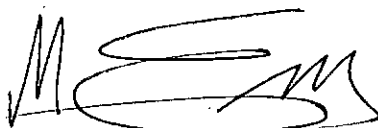
No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. metacercarias	No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. metacercarias
1	M	6.9	5	0		15	M	1	0.6	1	12
2	M	8	5	0		16	M	1.3	0.9	0	
3	M	4.8	4	0		17	M	1.7	1	0	
4	F	5.2	3.4	0		18	M	1.4	0.7	0	
5	M	2	1.9	1	7	19	M	1.5	1	0	
6	F	2.3	1.5	0		20	M	1.6	1	0	
7	F	2.6	1.6	0		21	M	1.1	0.9	0	
8	M	1.6	1.2	0		22	M	1.1	0.9	0	
9	M	1.2	0.9	1	12	23	M	1.1	0.9	0	
10	F	1.4	0.9	1	2	24	M	1.1	0.9	0	
11	F	8.3	5.5	0		25	F	2	1	0	
12	F	2.3	2	0		26	M	2.1	1.5	0	
13	M	1.1	0.7	0		27	F	2.9	1.9	0	
14	M	1.6	1.1	0		28	F	2.1	1.6	0	

LA
COCHERA

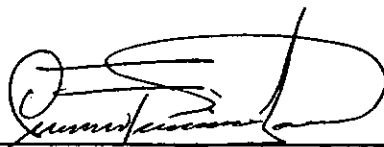
No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. metacercarias	No.	Sexo	Ancho	Largo	Infección	No. metacercarias
1	M	3	1.6	0		23	F	2.1	1.2	0	
2	F	3.2	2.1	0		24	M	2.2	1.4	0	
3	M	2	1.2	0		25	M	3.5	1.8	0	
4	F	0.5	0.5	0		26	M	2.5	1.4	0	
5	F	1.3	1.1	0		27	M	2.6	1.4	0	
6	F	1.2	1	0		28	M	2.1	1.5	0	
7	F	0.5	0.5	0		29	M	2.3	1.4	0	
8	M	2.2	1.2	0		30	M	2.1	1.7	0	
9	M	2.5	1.2	0		31	M	2.5	1.5	0	
10	F	0.7	0.5	0		32	M	2.7	1.2	0	
11	M	1.2	0.7	0		33	M	3.2	1.8	0	
12	M	3.2	1.7	0		34	M	3	1.6	0	
13	F	0.5	0.5	1	1	35	M	2.8	1.4	0	
14	F	1.3	1.1	1	1	36	M	2.5	1.3	0	
15	F	1.2	1	1	1	37	M	2.1	1	0	
16	M	0.5	0.5	1	1	38	M	2.2	1.5	0	
17	F	1.1	0.9	0		39	M	3.4	1.8	0	
18	F	1.1	0.9	0		40	M	2.1	1	0	
19	F	1.1	0.9	0		41	M	2.2	1.3	0	
20	F	2.1	1.5	0		42	M	2.7	1.4	0	
21	F	2.9	1.9	0							
22	F	2.1	1.6	1							



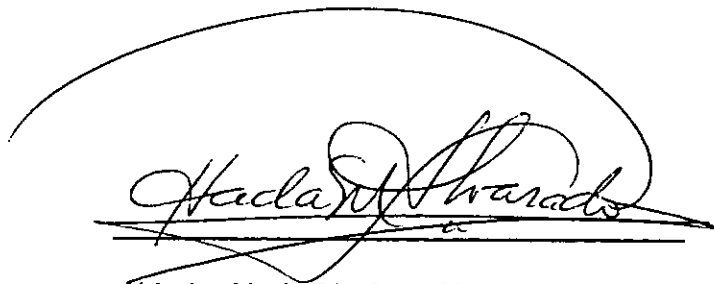
Maria de los Angeles Rosas Garcia
Tesisista



Licda. M.Sc. Carlota Monroy
Asesora



Lic. M.Sc. Oscar Lara
Director



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana

17. Schwecke, W.M. Nelson, J.H. DiBHA as an Internal Standard for determination of BHA and BHT by Gas Chromatography. *J. Agr. Food Chem.* Vol. 86, 1964.
18. Doeden, W.G. et al. Determination of BHA, BHT and TBHQ in Edible Fats and Oils. *Jorn. Amer. Oils Chem.* Vol. 56 #1, Jan '79. Pp 12-14
19. Austin, R.E. Wyatt, D.M. A Rapid Method for Analysis of Refined Vegetable Oils for TBHQ by Gas Chromatography. *Jorn. Amer. Oils Chem.* Vol. 57 # 1, Jan '80. Pp 422-424
20. Chen, et al. Effects of Synthetic Antioxidants (BHA, BHT And PG) on The Mutagenicity of IQ Like Compounds. *Food Chemistry.* Vol. 43, 1992. Pp 177-183.
21. *Poisoning and Drug Overdose.* Prentice Hall. USA 1990. Pp 500-501
22. Comisión del Codex Alimentarius. *Codex Alimentarius.* FAO/OMS. Roma, Italia, 1992.
23. Aldrich. Aldrich Chemical Company. *Catalog Handbook of Fine Chemicals.* USA 1995.
24. *Catálogo Merck.* Alemania 1999-2000. Merck KgaA
25. AOAC. *Official Methods of Analysis.* 14 Edición. Tomo I. USA 1984.

26. Mazariegos, D.J. Manual de Procedimientos para la validación, caracterización y evaluación de métodos analíticos de Químicos y Bioquímicos. Guatemala, INCAP.
27. Botterweck, A, et al. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. Food Chem. Toxicol. Vol. 38(7), Jul 2000. Pp 599-605. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80>)
28. Norma Guatemalteca Obligatoria. Aditivos Alimentarios Permitidos para Consumo Humano COGUANOR NGO 34 192. 1992.

XII. ANEXOS

Anexo 1

Toxicidad del BHA y BHT:

Trabajos realizados en 1959 sobre el BHT, demuestran que este aditivo a concentraciones de 0.05%, es capaz de provocar un aumento de peso en el hígado de rata, ratón, pollo, pato y cerdo. Aunque en el mono no se ve esta característica, sino hasta después de una dosis de 50mg/Kg al día. (6)

Brown (20) atribuyó un aumento significativo en el peso del hígado de ratas tratadas por 7 semanas con una dieta que contenía 0.1% de BHT. La acción venía acompañada con una alimentación rica en grasas.

Wilder (20) efectuó, por dos años, estudios en ratas sobre el BHA, con dosis de 0.5% en la alimentación, notando una leve reducción de peso y grueso del hígado, pero ningún efecto nocivo.

En 1972 Marino y Mitchell demostraron que el BHT es capaz de dañar el pulmón del ratón luego de una sola inyección intraperitoneal. Resultado confirmado en 1977 por Omaye y observado en la ingestión por Witschi y Lock en 1978. (6)

En 1975, Fujii observó la muerte por hemorragia de ratas que habían ingerido por un período de 12-25 días, alimentos conteniendo 1.5% de BHT. (6)

Takahashi e Hiraga en 1978, demostraron que la toxicidad del BHT se debe a su estructura y no a su efecto antioxidante, al comparar con otros antioxidantes, los cuales no mostraron ningún efecto sobre la coagulación. Los mismos comprobaron que el efecto sobre la coagulación del BHT, puede suprimirse con el consumo de vitamina K1, por lo que se piensa que la acción del BHT resulta de una avitaminosis producida por el aditivo. (6)

Day et all. encontraron que en ratas alimentadas con dietas que contienen 0.5% de BHT, por un período inferior a cinco semanas se puede notar un aumento de colesterol sanguíneo y en algunos casos también fosfolípidos y de mucoproteínas. (20)

En 1983 se demostró que el BHA en concentraciones de 2% en la dieta, causa la aparición de carcinomas en la parte interior del estómago de ratas. En concentraciones del 0.5% no se evidenciaron carcinomas. En ratas Wistar, el BHA provoca igualmente, la aparición de papilomas en concentraciones de 0.1 – 0.5%. (21)

En un artículo publicado en 1992 por Food Chemistry, se menciona que en estudios realizados en roedores se evidencia que el BHT causa cáncer hepático. También es capaz de provocar mutagénesis y carcinogénesis. Pero aclara que la mutagénesis causada por el BHT, no necesariamente incrementa el riesgo de cáncer en humanos. (20)

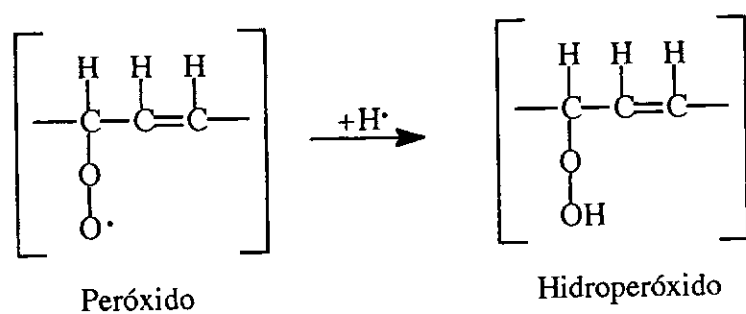
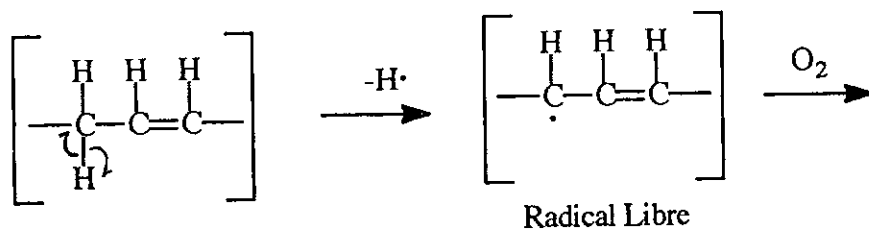
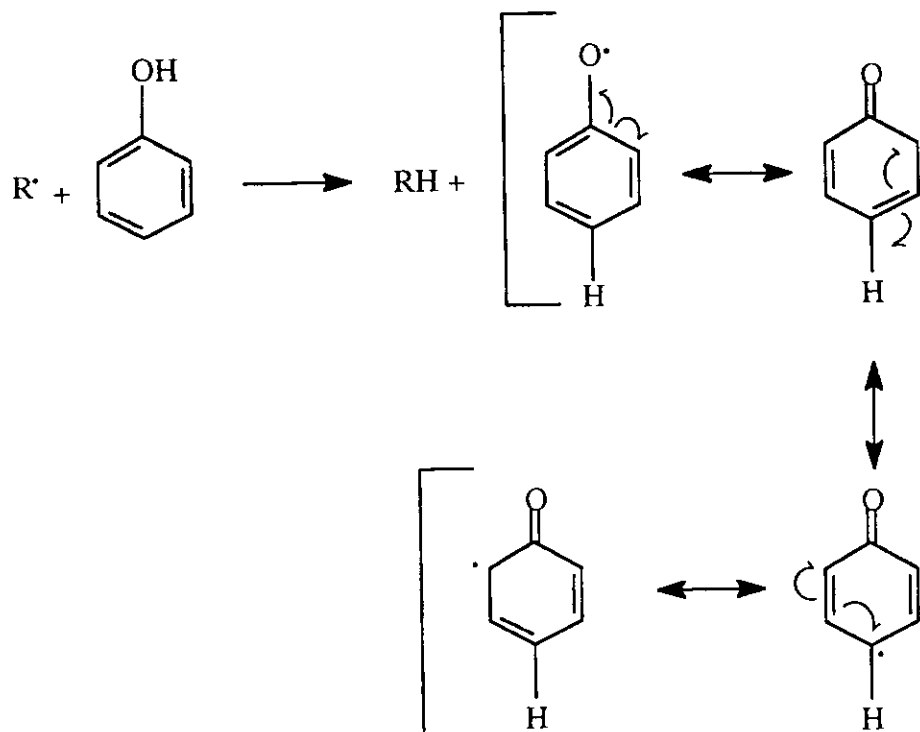
Denz y Llaurodo suministraron 1 g de BHA, a conejos de 5 – 6 semanas por vía gástrica, encontrando un aumento de 20 veces en la excreción de potasio y

la sustitución en las células musculares de potasio por sodio. Encontraron efectos sobre el riñón y lesiones corticosuprenales. (20)

Desde del punto de vista bioquímico es claro que el BHT es de fácil absorción por el organismo, con su posterior acumulación en los tejidos adiposos y el aumento de la resistencia de las grasas de reserva a ser utilizadas, lo que se traduce en que éste puede ser un factor que provoque la obesidad en seres humanos. (20)

Botterweck et all, realizaron un estudio llamado Netherlands Cohort Study, para investigar sobre el riesgo de cáncer estomacal en seres humanos por ingestión de antioxidantes sintéticos, como BHA y BHT. Era de interés pues también se ha reportado que estos antioxidantes tienen efectos anticancerígenos. En el estudio se emplearon 120,852 hombres y mujeres en edades entre 55 y 69 años. Además se analizaron químicamente los contenidos de dichos antioxidantes en aceites de cocina, mayonesas, aderezos y sopas instantáneas para tener una base de datos sobre la ingesta diaria. Después de 6.3 años se observaron 192 incidentes de cáncer en el estómago. Estadísticamente hablando no se encontró relación entre el riesgo de cáncer y la ingesta de bajas concentraciones de BHA y BHT, pero tampoco se encontró que el aumento en el consumo de estos antioxidantes sirviera para disminuir el riesgo de cáncer estomacal. (27)

Anexo 2

Mecanismo de Oxidación de las Grasas:*Mecanismo Antioxidante:*

Anexo 3

Normativas:

- ◆ La FDA (Food and Drug Administration) estableció un límite de 0.02% (200 ppm) en combinación o solos de BHT y BHA basado en el peso del aceite o grasa a utilizar. (4)

- ◆ El Codex Alimentarius en el año 1989 estableció como límites para BHT y BHA, 75 mg/Kg (75 ppm), solos o mezclados con TBHQ o PG, mencionando que estos no pueden exceder de 100 mg/Kg (100 ppm) por peso de grasa o aceite. (22)

- ◆ El Comité de la FAO/OMS estableció como concentración libre de efectos tóxicos para el BHT 0.001% (10 ppm) y como límites máximos aceptables para el BHA 0.005% (50 ppm). (20)

- ◆ COGUANOR en su norma NGO 34 192 especifica que para aceites y grasas comestibles el BHA cuando se emplea sólo o acompañado no debe sobrepasar de 175 mg/Kg de producto; para el TBHQ cuando se emplea solo o acompañado no debe pasar de 120 mg/Kg; y el BHT no debe sobrepasar los 75 mg/Kg cuando se emplea solo. (28)

- ◆ Cuando se emplean mezclas de estos antioxidantes, la cantidad total de ellos no debe exceder de 200 mg/Kg, sin que excedan los límites individuales para cada antioxidante. (28)

Anexo 4

Costo de Reactivos:

<i>Reactivo</i>	<i>Grado</i>	<i>Cantidad</i>	<i>Precio \$</i>	<i>Precio Q</i>
Hexano	reactivo	1 Lt	16.90	130.13
Cloroformo	reactivo	1 Lt	18.9	145.53
Acetonitrilo	reactivo	1 Lt	25.8	198.66
BHA	reactivo	1 Kg	240.25	1849.93
BHT	reactivo	100 g	18.3	140.91
TBHQ	reactivo	100 g	13.85	106.65
			334.0	2571.81

Nota: El cálculo se hizo con un precio de 1 dólar por Q 7.70.

Ref. (23) (24)

Costo por Análisis:

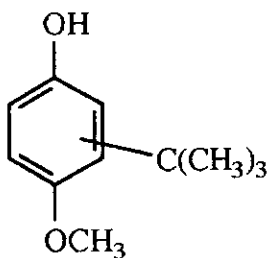
<u>Reactivo</u>	<u>Grado</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Precio Q</u>
Hexano	reactivo	100 mL	13.01
Cloroformo	reactivo	10 mL	1.50
Acetonitrilo	reactivo	150 mL	29.80
BHA	reactivo	1 g	1.85
BHT	reactivo	1 g	1.41
<u>TBHQ</u>	reactivo	<u>1 g</u>	<u>1.07</u>
			Q 48.64

Nota: este es un costo aproximado del análisis de antioxidantes para un aceite comestible, pero faltaría calcular costos de personal, energía y demás suministros.

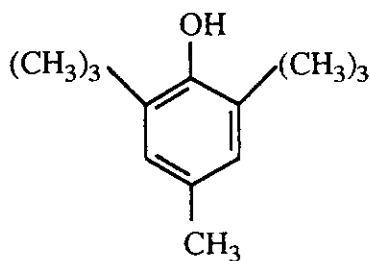
Anexo 5

Estructuras de los Antioxidantes

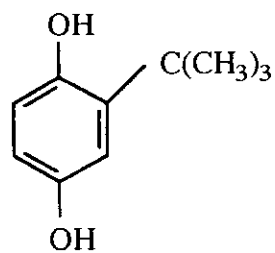
BHA:



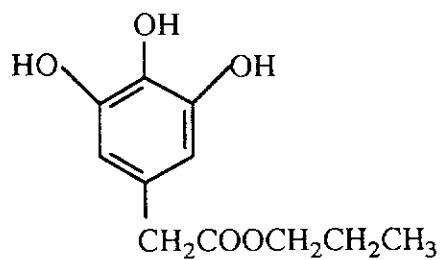
BHT:



TBHQ:



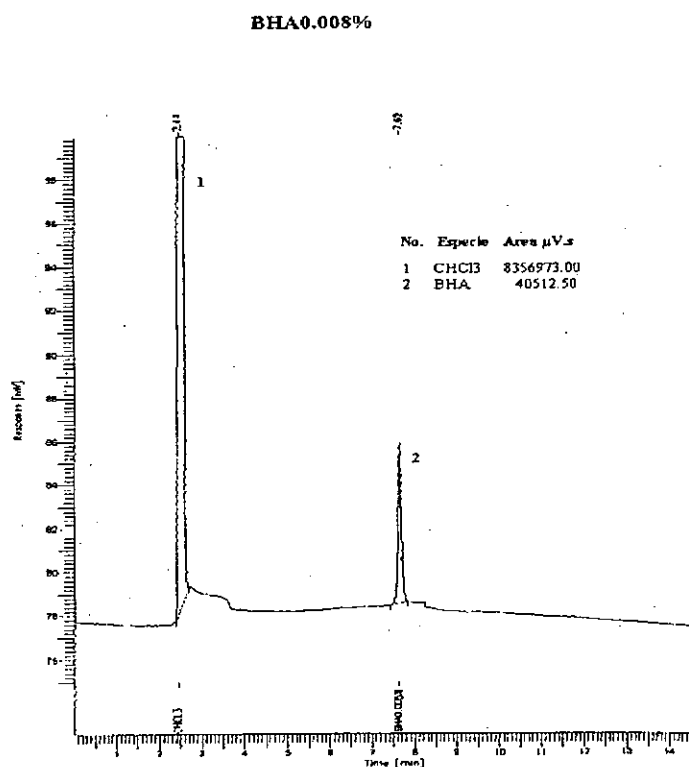
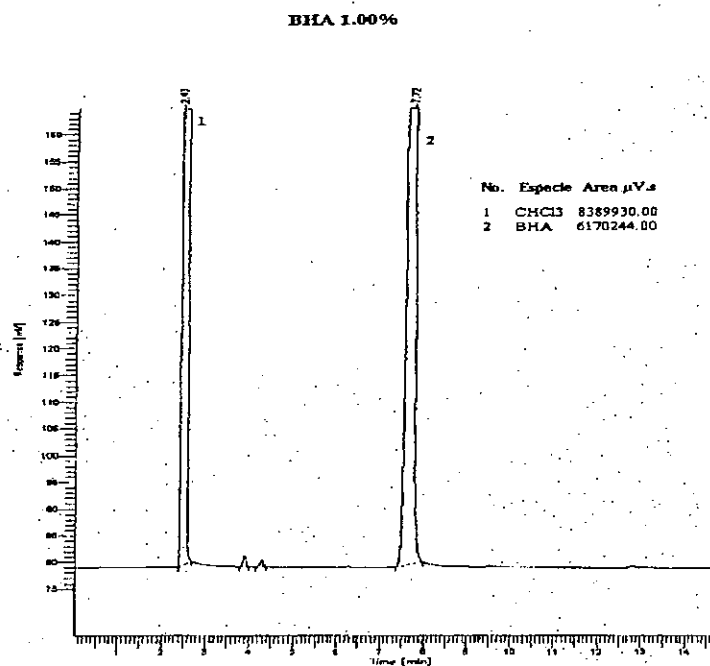
Galato de Propilo:



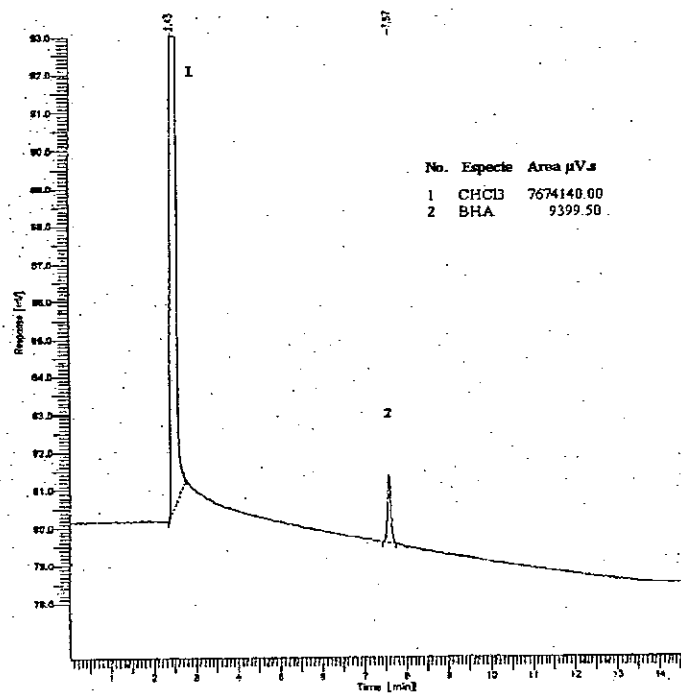
Anexo 6

Cromatogramas

Curva de Calibración BHA:

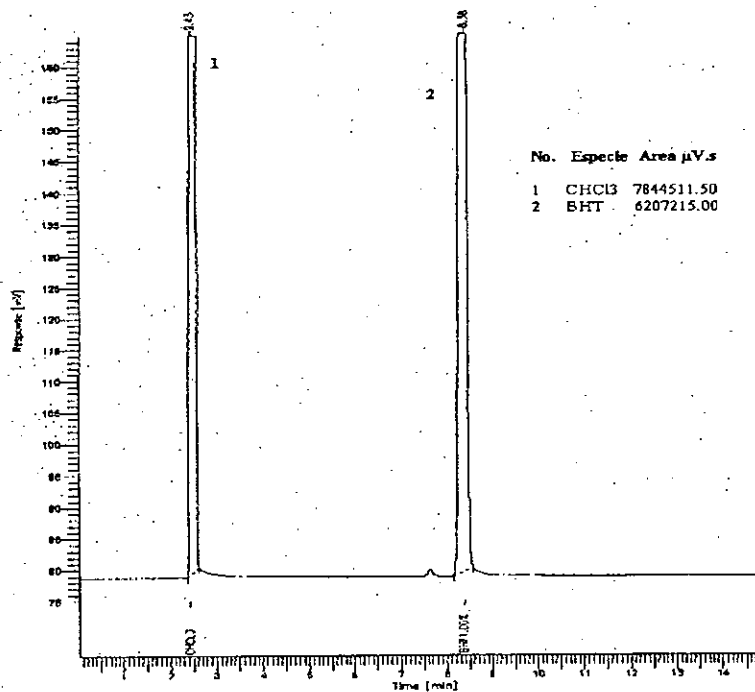


BHA 0.002%

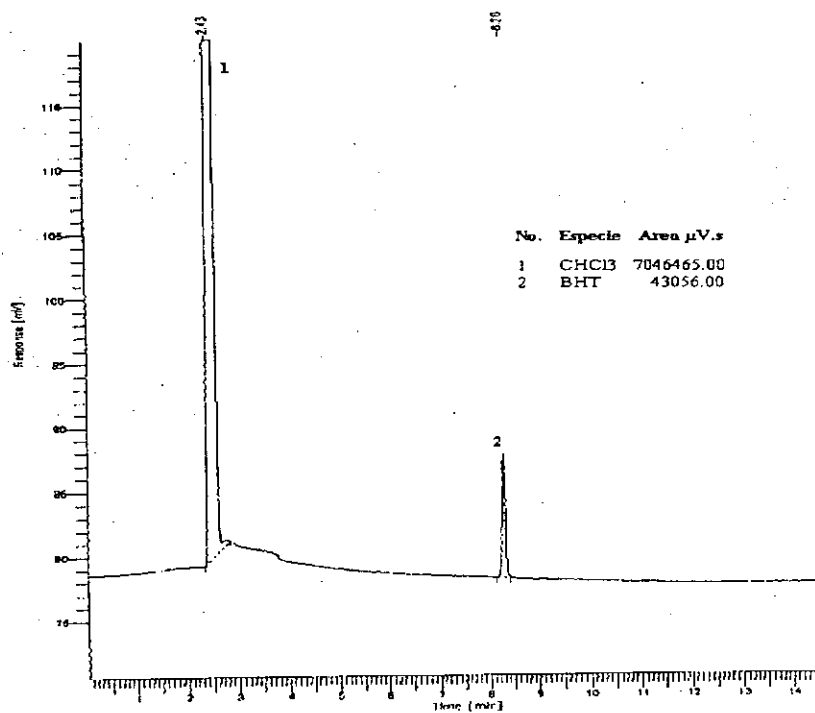


Curva de Calibración de BHT:

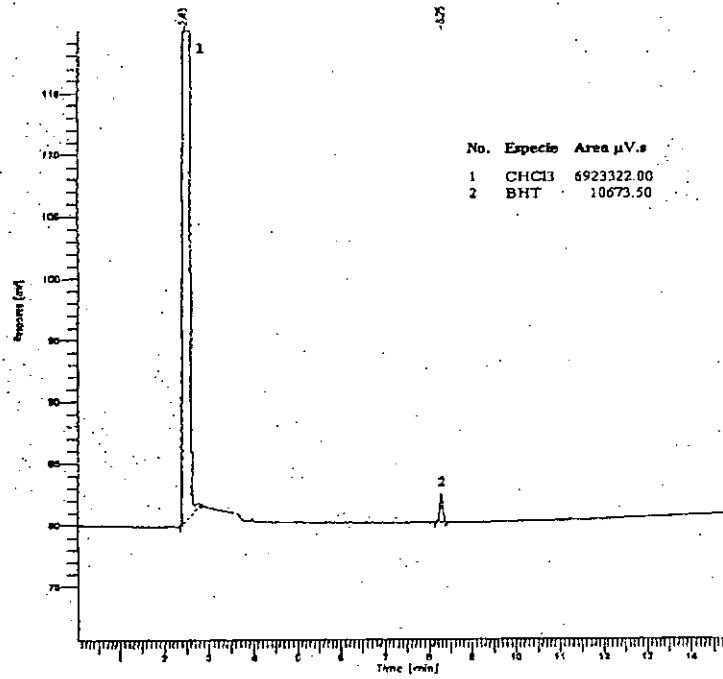
BHT 1.00%



BHT 0.008%

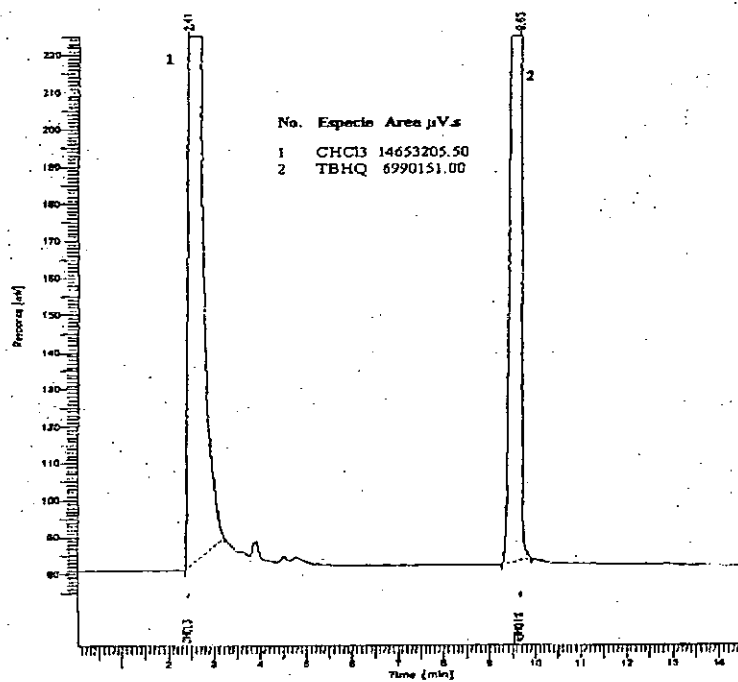


BHT 0.002%

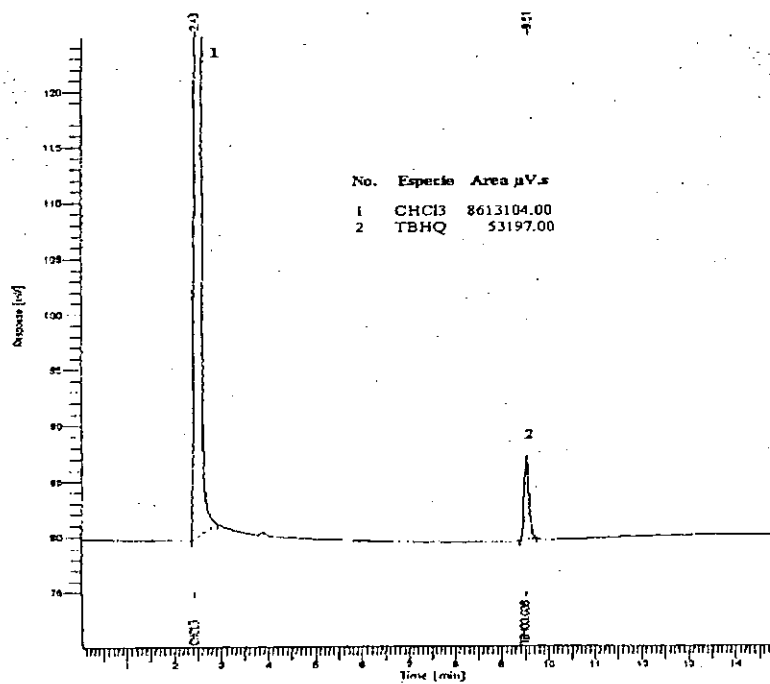


Curva de Calibración TBHQ:

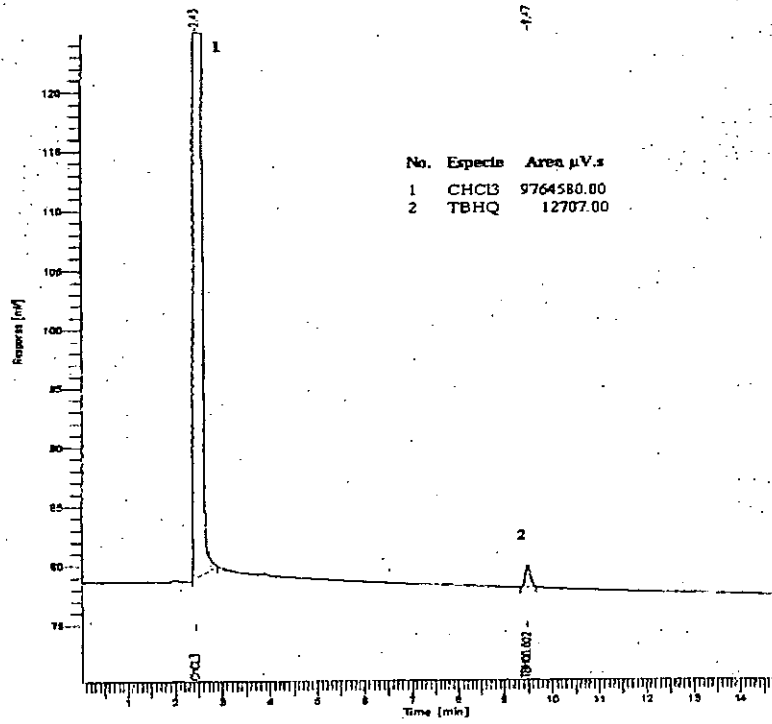
TBHQ 1.00%



TBHQ 0.008%

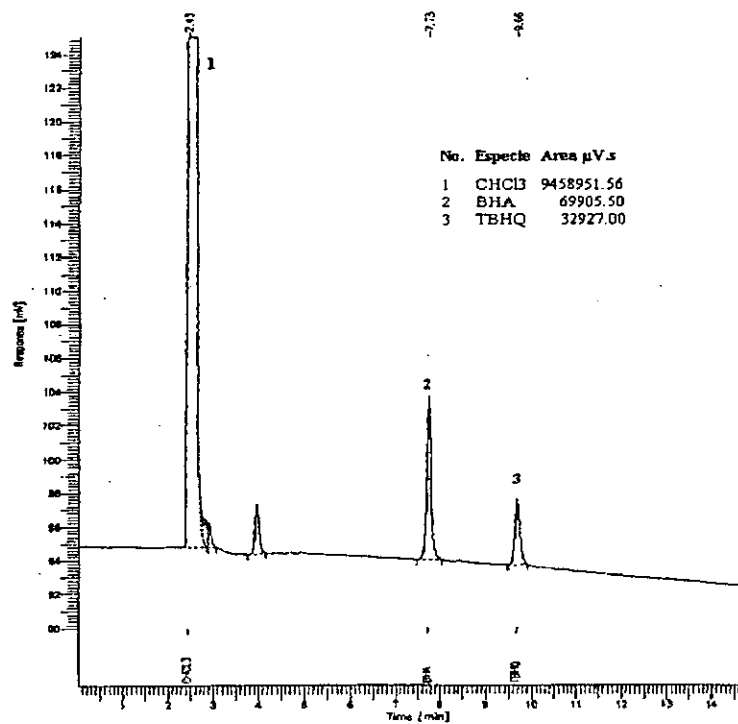


TBHQ 0.002%

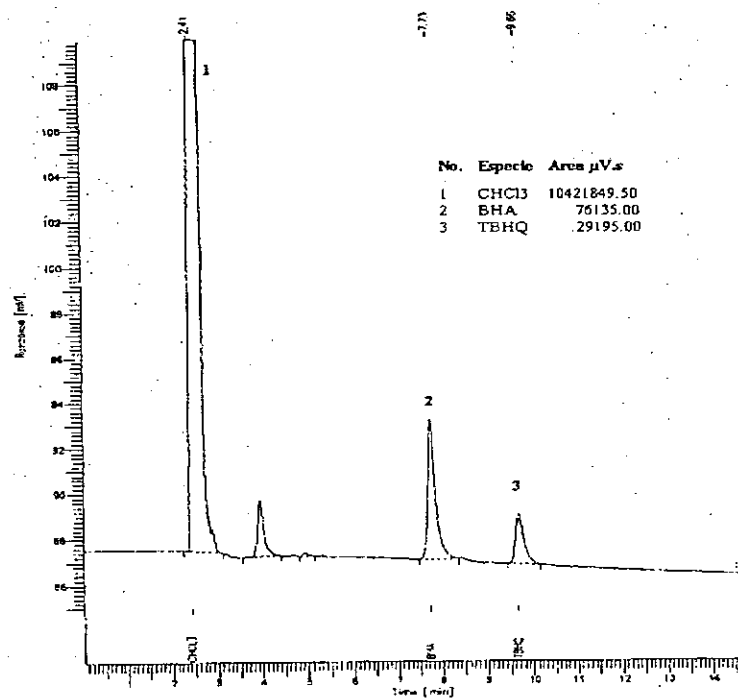


Muestras:

Muestra 1

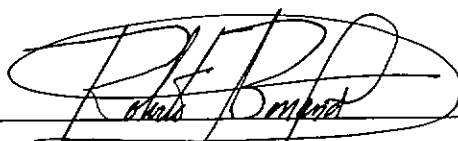


Muestra 10





Br. Manola Anleu Fortuny



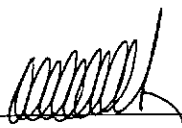
Lic. José Roberto Benavides S.

Asesor



Lic. Rony Estuardo Ayala Jiménez

Director



Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

Decano en Funciones