

Dirección General de Estudios
de Post-Grado
U. A. N. L.

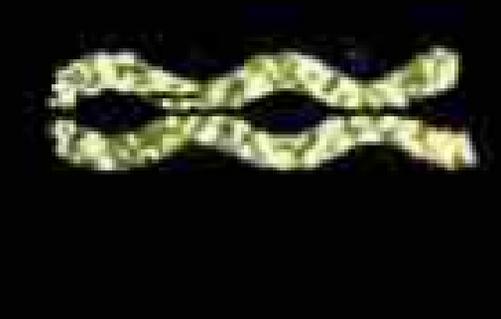
PREMIO DE INVESTIGACION 1987

MORFOLOGIA Y TAXONOMIA DE UNA
ESPECIE NUEVA DE *Dumetibularia*

TM
Z5320
FCB
1987
G9

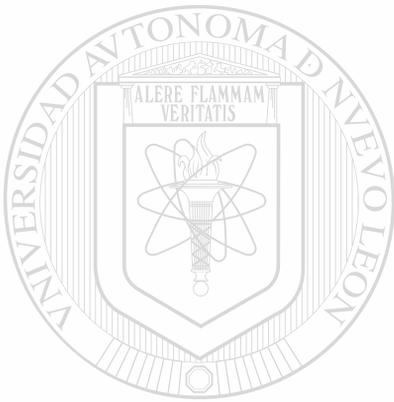
MORFOLOGIA Y TAXONOMIA DE UNA
ESPECIE NUEVA DE *Dumetia*

MORFOLOGIA Y TAXONOMIA DE UNA
ESPECIE NUEVA DE *Dumetia*





1020146512

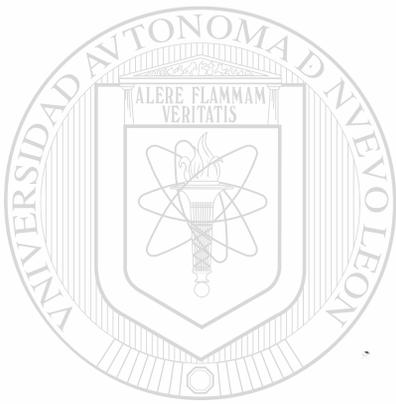


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



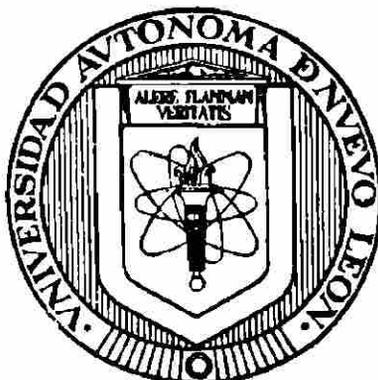
UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



MORFOLOGIA Y TAXONOMIA DE UNA ESPECIE NUEVA DE Dunnifilaria
(FILARIOIDEA: ONCHOCERCIDAE) DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL
DE LA RATA DE CAMPO AMERICANA, Neotoma micropus, EN EL NOR-
ESTE DEL ESTADO DE NUEVO LEON, MEXICO.

T E S I S

UANL

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
PARASITOLOGIA

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

POR

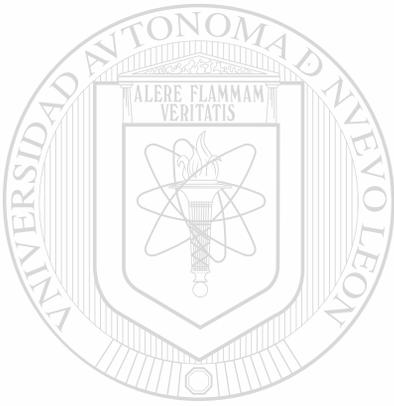
QBP ENRIQUE DE JESUS GUTIERREZ PEÑA

MONTERREY, N.L.

NOVIEMBRE DE 1987.

0150 - 65660

TM
Z5320
F0B
1987
G9



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



FONDO
TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

MORFOLOGIA Y TAXONOMIA DE UNA ESPECIE NUEVA DE Dunnifilaria
(FILARIOIDEA: ONCHOCERCIDAE) DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL
DE LA RATA DE CAMPO AMERICANA, Neotoma micropus, EN EL NOR-
ESTE DEL ESTADO DE NUEVO LEON, MEXICO.

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OPTAR AL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
PARASITOLOGIA

POR

QBP ENRIQUE DE JESUS GUTIERREZ PEÑA

COMISION DE TESIS

APROBADA:

DIRECTOR:

BION. M.C. FERNANDO JIMENEZ-GUZMAN

SECRETARIO:

QFB M.C. ENRIQUE RAMIREZ-BON

VOCAL:

QBP M.C. LUCIO GALAVIN-SILVA

DIRECTOR EXTERNO:

PROF. DR. MED. DR. RER. NAT. DIETRICH W. BUTTNER

MONTERREY, N.L.

NOVIEMBRE DE 1987.

I N D I C E

1.-	Introducción	1
2.-	Antecedentes	3
3.-	Material y métodos	6
3.1.-	Material	6
3.1.1.-	Procedencia del material	6
3.2.-	Métodos	8
3.2.1.-	Colecta e identificación de los hospederos	8
3.2.2.-	Estudio histológico en los hospederos	8
3.2.3.-	Morfología general de los gusanos adultos y microfilarias mediante la microscopia compuesta de luz (ML)	9
3.2.4.-	Morfología externa de la estructura fina (superficie cuticular) de los gusanos adultos y microfilarias mediante la microscopia electrónica de barrido (MEB)	10
3.2.5.-	Investigación de la estructura fina de la cutícula y del esófago de los gusanos adultos mediante la microscopia electrónica de transmisión (MET)	11
4.-	Resultados	13
4.1.-	Demostración histológica de los gusanos en el hospedero	13
4.1.1.-	Localización de los gusanos	13
4.1.2.-	Histopatología de la infección	14
4.2.-	Descripción morfológica de la especie nueva de <u>Dunnifilaria</u> mediante la ML, MEB y MET	17
4.2.1.-	Morfología	17
4.2.1.1.-	Estructuras de la superficie cuticular de las porciones anteriores y medias de los gusanos adultos	17
4.2.1.2.-	Gusanos machos	22
4.2.1.3.-	Gusanos hembras	27
4.2.1.4.-	Microfilarias	35

4.3.-	Investigación taxonómica de la especie nueva de <u>Dunnifilaria</u>	40
4.3.1.-	Diagnósis taxonómica	40
4.3.2.-	Datos para el catalogado de los tipos	42
5.-	Discusiones	43
5.1.-	Histología e histopatología de la infección	43
5.1.1.-	Histología y distinción entre <u>Dunnifilaria</u> sp. y otras especies filarias-afines que parasitan en el SNC	43
5.1.2.-	Histopatología	44
5.2.-	Morfología de la especie nueva de <u>Dunnifilaria</u>	45
5.2.1.-	Gusanos adultos	45
5.2.2.-	Microfilarias	48
5.3.-	Diagnósis taxonómica de la especie nueva de <u>Dunnifilaria</u>	48
6.-	Resúmen	50
6 (a).-	Zusammenfassung (Alemán)	53
6 (b).-	Summary (Inglés)	56
7.-	Clave para la lectura de las abreviaciones en las laminas 2-13	59
8.-	Literatura citada	60

A G R A D E C I M I E N T O S

Este trabajo fué realizado en el Departamento de Helmintología del Instituto Bernhard Nocht (BNI) para Enfermedades Navales y Tropicales, Hamburgo, República Federal Alemana, en colaboración con el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L., México.

Financiado por el Departamento de Becas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México, y parcialmente por el Instituto Bernhard Nocht, República Federal Alemana.

El autor agradece a los Profs. Dietrich W. Büttner (Director Científico del Departamento de Helmintología del BNI, R.F. Alemana; asesor directo en esta investigación), Ralph Muller (Jefe del Departamento de Parasitología del Commonwealth Institute, Reino Unido de la Gran Bretaña; consultor externo) y Fernando Jiménez-Guzmán (Jefe del Laboratorio de Parasitología de la FCB-UANL, México; en función de asesor interno) por su asistencia y valiosas sugerencias para la realización de este trabajo.

También, a los Colaboradores de ambos Institutos, de especial forma a los Colegas Ildefonso Fernández-Salas y Lucio Galavíz-Silva, por proporcionar gentilmente la mayor parte del material biológico empleado en este estudio.

A los Profs. P. Rácz y H. Schmitz del BNI por permitir el acceso a los Departamentos de Patología y Virología, respectivamente, en donde fueron realizados la investigación histológica de este trabajo con la ayuda técnica de la Srta. MTA Birgit Raschdorff y la investigación morfológica con el empleo de los microscópios electrónicos de barrido y transmisión contando para ello con la asesoría acertada del Dr. Gunter Müller.

1.- INTRODUCCION

Con el proposito de contribuir a la taxonomía y morfología del agente causal de la filariasis cerebral reportada en roedores nativos del Continente americano, Neotoma micropus (rata de campo americana), el presente trabajo responde provelendo la descripción de una especie nueva de Nemátodo Filarioideo perteneciente al género Dunnifilaria.

Menos precisa, la descripción inicial de los gusanos adultos y microfilarias de esta filariasis silvestre ("como género y especie no determinadas") fué dada recientemente por el mismo autor (Gutiérrez, 1983) durante la tarea de contribuir al conocimiento de la fauna parasitaria del género Neotoma, con la finalidad de determinar la importancia zoonótica de este hospedero para la región rural del Noreste del Estado de Nuevo León, México, donde la población de este roedor se encuentra ampliamente distribuida.

Mediante la microscopia de luz, el mismo autor había determinado en ese entonces que los gusanos pertenecían al pequeño grupo de "parásitos de mamíferos" de la subfamilia Splendidofilariinae, donde éstos aparentaron representar un género nuevo morfológicamente distinto a los cinco ya descritos; Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, Meningonema Orihel y Esslinger, 1973, Micipsella Seurat, 1971, Onchocercella Yorke y Maplestone, 1931 y Protofilaria Chandler, 1929 (según la clasificación más reciente de las filarias; Anderson y Bain, 1976). Sin embargo, como lo han denotado otros autores (Lichtenfels et al, 1983; Lian-Yin et al, 1984), las determinaciones y descripciones exactas con el microscopio compuesto de luz rinden a menudo con serias limitaciones para poder reconocer algunas de las estructuras finas de importancia distintiva entre las mismas especies de un grupo determinado de parásitos, resultando en ocasiones (Shoho y Uni, 1977) como la causa principal de una falsa identificación de los especímenes estudiados.

Por otra parte, cabe señalar que la mayor confusión en el ordenamiento de una especie, reflejada comunmente por las pobres o deficientes determinaciones descriptivas, así como también por la desafortunada tendencia de investigadores inexpertos que elevan especies pobremente conocidas a rangos genéricos o superiores, resultan en conjunto la gran limitante para el cada vez más difícil y complicado sistema de clasificación taxonómica (Yamaguti, 1961; Anderson y Bain, 1976).

Es por eso que el presente trabajo es orientado en función del reconocimiento seguro y exacto de la especie en estudio con la ayuda de las técnicas modernas para la microscopia de luz (ML), microscopia electrónica de barrido (MEB) y microscopia electrónica de transmisión (MET), como medios descriptivos elementales y precisos en la morfología actual de las especies.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.- ANTECEDENTES

El primer indicio del hallazgo de la filariasis cerebral de las ratas *Neotomas* en las zonas aledañas a los Poblados "Los Aldamas y Dr. Coss", Estado de Nuevo León, México, fué confirmado por Gutiérrez (1983) y un grupo de Colegas del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León en Monterrey, N.L., México, cuando ocasionalmente en la examinación directa de algunos preparados frescos de una serie de muestras sanguíneas de 40 ratas-*Neotomas*, capturadas vivas durante una investigación preliminar de los hemoparásitos de los roedores más comunes del Estado de Nuevo León (desarrollada durante la estación de Verano de 1982), encontraron que 14 de éstos roedores (35 %) presentaban en común un número considerable de microfilarias no periódicas. Esto hizo suponer en un principio tratarse de un registro-hospedero nuevo para la especie Litomosoides carinii, la cual ha sido reportada en la literatura como una especie común de la cavidad torácica del roedor de campo, Sigmodon hispidus, en el vecino Estado de Texas (Chandler, 1931), Estados Unidos de Norteamérica, y ya también, en el mismo estado de Nuevo León (Gutiérrez, 1980), México. Sin embargo, la investigación exhaustiva en la búsqueda de las filarias adultas en las cavidades corporales de las ratas-*Neotomas* no rindió con el diagnóstico esperado, sino que después de infructuosos intentos por demostrar e identificar a los gusanos adultos fué cuando de nuevo casualmente en un cerebro extirpado de uno de los roedores positivos con microfilarias, el cual había sido inconcientemente olvidado en una caja de petri conteniendo solución salina 0.85 por ciento y bajo el calor de la lampara del microscopio estereoscópico, pudo ser finalmente denotado que las propias filarias con movimientos activos abandonaban los tejidos cerebrales para depositarse libremente en la tibia solución isotónica, quedando demostrado de esta forma la característica localización tisular de estos gusanos en la misma masa cerebral del hospedero.

Posteriormente, los mismos jóvenes investigadores, particularmente Gutiérrez en su Tesis-Profesional (1983), encontraron más que dificultades para poder ordenar taxonómicamente al nuevo parásito.

Ellos reconocieron sólo concretamente el rango de subfamilia (*Splendidofilariinae*) al cual pertenecían sus gusanos, dejando incierta su posición genérica dentro de ese grupo ("parásitos de mamíferos"), donde los géneros Dunnifilaria, Menigonema y Micipsella, más particularmente el primero de los mencionados, representaron a los miembros más cercanos en apariencia morfológica.

Por otra parte, el género Dunnifilaria, al cual verdaderamente pertenece la especie-filaria estudiada, ha sido propuesto por Mullin y Balasingam (1973) para gusanos redondos y filiformes que parasitan la cámara derecha y arterias pulmonares de la rata gigante de cola larga, Rattus sabanus, en los Estados de Pahang y Selangor, Malasia. Ellos determinaron a sus especímenes; Dunnifilaria ramachandrani, en reconocimiento a la labor de los Drs. F. L. Dunn y C. P. Ramachandran, quienes en 1962 reportaron por primera vez la presencia de este parásito, para el mismo hospedero y localización, en las cercanías de Kuala Lumpur.

Posteriormente, Sivanandam et al (1965) volvieron a reportar a la especie para el mismo distrito, pero no es sino hasta 1973, cuando Mullin y Balasingam elevaron a estos especímenes a nivel de género nuevo, distinguiéndolos morfológicamente de los cuatro géneros de la subfamilia *Splendidofilariinae* "parásitos de mamíferos" enlistados en ese entonces por Yamaguti (1961); Johnstonema Yeh, 1957, Micipsella Seurat, 1921, Onchocercella Yorke y Maplestone, 1931, y Protofilaria Chandler, 1929.

Entre tanto, una segunda especie conocida, Dunnifilaria dilli, ha sido descrita por Mak (1979) del sistema linfático, en particular, de los nódulos linfáticos de la parte posterior de roedores, Rattus koratensis, en Canthaburi, Tailandia. El denotó que sus especímenes presentaban casi todos los caracteres genéricos establecidos para el recién formado género Dunnifilaria. Sin embargo, fué demostrado en su trabajo que la especie descrita (D. dilli) difería particularmente de D. ramachandrani por sus finas estriaciones transversales dispuestas en ambas extremidades, por presentar sólo dos pares de papilas caudales postanales y producir microfilarias mucho más cortas y carentes de vaina.

En cuanto al hospedero Neotoma, son relativamente escasos los trabajos orientados al reconocimiento de su fauna parasitaria. De hecho, estos pocos estudios están relacionados a la fauna ectoparásita, protozoológica y sobre algunos endoparásitos intestinales (Céstodos y Nemátodos). No teniendo conocimiento de alguna otra filarías en este roedor, sería este el primer caso descrito en Neotoma y el primer registro del género Dunnifilaria para el mismo hospedero y en el Continente americano.

Por último, al igual que para otros géneros de filarias parásitas de animales silvestres, no existen en la literatura estudios que antecedan la investigación de la estructura fina del género Dunnifilaria o de algún otro miembro de la subfamilia Splendidofilariinae.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

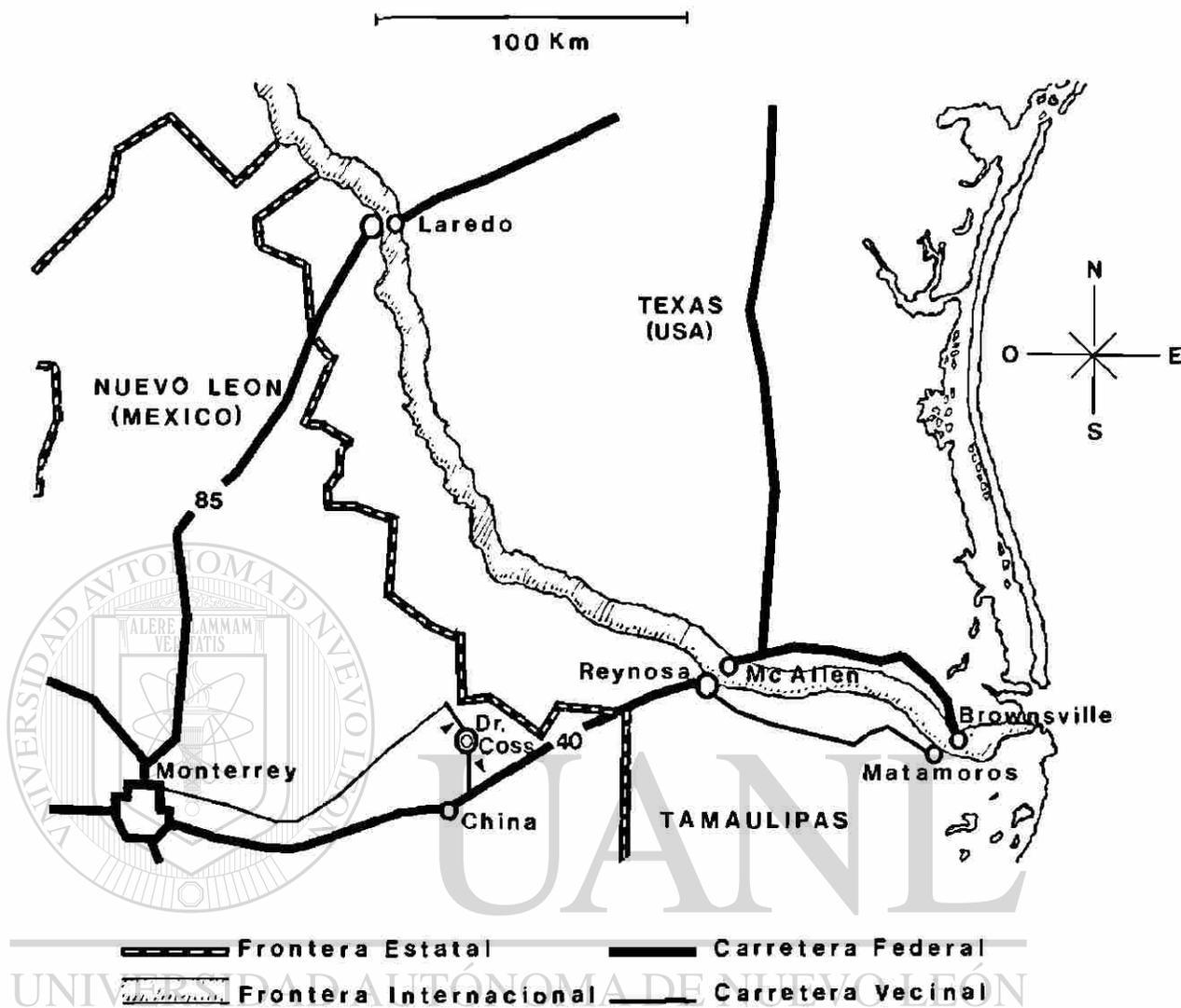
3.- MATERIAL Y METODOS

3.1.- MATERIAL.

3.1.1.- Procedencia del material.

Los gusanos utilizados para este estudio fueron característicamente recuperados del sistema nervioso central de 100 ratas de campo (Neotoma micropus) investigadas durante las distintas estaciones del año y durante un período comprendido entre 1985 y 1986. Este material fué gentilmente proveído por mis Colegas QBP's Ildefonso Fernández S. y Lucio Galavíz S., ambos del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León en México. Ellos mismos realizaron las capturas de los animales vivos en dos localidades denominadas; Rancho Las Animas (25° 59' L.N. y 99° 02' L.E.) y Rancho Las Flores (25° 59' L.N. y 99° 11' L.E.), ambas ubicadas en el Municipio de Dr. Coss, Estado de Nuevo León, México (Lamina 1-A). También es incluido en este trabajo aquél material que personalmente colecté en compañía del mismo grupo de colaboradores durante mi última visita a la zona mencionada en los primeros días del mes de Enero de 1987. Este último material fué exclusivamente utilizado para su estudio morfológico mediante la microscopía electrónica de barrido y transmisión (presentado en las laminas de este trabajo), mejorando con ello algunos de los resultados obtenidos en las observaciones anteriores.

En general, el material extraído de estos animales consistió en tres piezas cefálicas completas (obtenidas por la decapitación de tres roedores nativamente infectados), muestras de sangre cardiaca conteniendo microfilarias (12 tubos de ensayo), 34 gusanos machos y 27 gusanos hembras, los cuales inmediatamente después de su correspondiente fijación fueron enviados al Departamento de Helmintología del Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburgo, República Federal de Alemania, en donde fué desarrollada la presente investigación.



A

► Sitios de colecta



3.2.- METODOS.

3.2.1.- Colecta e identificación de los hospederos.

Para la captura de los hospederos-roedores, Neotoma micropus (Lamina 1-B), fueron empleadas las técnicas convencionales de campo usuales en el trampeo de pequeños mamíferos (García, 1971), mientras que la identificación de los animales fué realizada profesionalmente por el Colega Biol. Miguel A. Zuñiga, asistente y docente del Laboratorio de Mastozoología de la FCB-UANL, Monterrey, N.L., México.

3.2.2.- Estudio histológico en los hospederos.

Después de su captura y arribo al laboratorio, los roedores fueron inmediatamente sacrificados con cloroformo. Tres de estos ejemplares, a los cuales se les practicó la decapitación, fueron utilizados para demostrar la correcta ubicación histológica de los gusanos en los tejidos cerebrales de los hospederos.

Para este estudio, las tres piezas craneales (conteniendo la masa cerebral completa; cerebro-cerebelo-médula oblonga) fueron rápidamente fijadas en una solución de formaldehído al 4 por ciento. Posteriormente, fueron llevadas a un proceso de descalcificación (bajo presión) en una solución de ácido tricloroacético al 5 por ciento durante dos semanas aproximadamente. Antes de la descalcificación, los craneos enteros fueron cortados en tres piezas más pequeñas para facilitar la penetración de las soluciones utilizadas durante todo su proceso.

Por último, las piezas descalcificadas fueron trabajadas por las técnicas comunes para la inclusión en parafina, donde los cortes de 5 micras de espesor fueron realizados con la ayuda de un microtomo de la marca -Jung, Heidelberg-. De cada bloque se obtuvo un número aproximado de 20 cortes que fueron teñidos con los colorantes de hematoxilina y eosina.

Por otra parte, para la investigación morfológica y descriptiva del parásito tratado fueron utilizados los siguientes métodos de estudio.

3.2.3.- Morfología general de los gusanos adultos y microfilarias mediante la microscopia compuesta de luz (ML).

15 gusanos machos y 8 gusanos hembras fueron recuperados de las necropsias de algunos de los roedores con la ayuda de un microscopio estereoscópico y colocados inmediatamente en solución salina al 0.85 por ciento, donde fueron lavados y rápidamente retirados los restos de tejido del hospedero. Seguidamente, ellos fueron fijados en una solución de ácido acético glacial durante 20 minutos (Berland, 1961), y después transferidos a una mezcla de alcohol etílico al 80 por ciento conteniendo 5 por ciento de glicerina. Para la observación bajo el microscopio de luz, los gusanos fueron transparentados en glicerina pura y/o lactofenol.

También, las microfilarias contenidas en las muestras sanguíneas fueron empleadas para este estudio. La sangre fue tomada por punción cardíaca y fijada directamente en formaldehído al 2 por ciento. Más de 50 fróntis sanguíneos fueron preparados a partir de estas muestras. Una parte de ellos fueron tenidos con el colorante Giemsa (diluido en amortiguador de fosfatos 1:8) durante 30 minutos y el resto con hematoxilina de Mayer a 60 °C durante 45 minutos.

Los datos morfométricos de los gusanos y microfilarias fueron obtenidos con la ayuda de un ocular micrométrico (datos expresados en milímetros para los gusanos y en micras para las microfilarias).

Por otra parte, para la observación de ciertas estructuras internas de los gusanos adultos, algunos de estos fueron primeramente seccionados en pequeños trozos de escasos milímetros, deshidratados en una serie gradual de acetona, luego incluidos en bloques de ERL (Spurr, 1969) y finalmente llevados al ultramicrotomo Reichert OM-U3, donde fueron realizados una serie de cortes trans

versales semifinos de las distintas porciones del cuerpo que posteriormente fueron teñidos con el colorante azul de metileno de Harris durante 10 minutos.

El material de ambas secciones (3.2.2. y 3.2.3.), incluyendo los cortes semifinos de los gusanos, fué observado y fotografiado con un Fotomicroscopio Zeiss III empleando película AGFA blanco y negro de 25 mm.

3.2.4.- Morfología externa de la estructura fina (superficie cuticular) de los gusanos adultos y microfilarias mediante la microscopía electrónica de barrido (MEB).

18 gusanos machos, 16 hembras y algunas microfilarias fueron fijadas en glutaraldehído al 2 por ciento (en amortiguador de cacodilato de sodio 0.1 M, pH 7.0) a temperatura de refrigeración durante toda la noche. Posteriormente, fueron lavados en cinco cambios en amortiguador de cacodilato de sodio 0.1 M, pH 7.0, y postfijados en tetróxido de osmio al 1 por ciento (en una solución nueva del mismo amortiguador) durante 1 a 2 horas a 4 °C. Después de un segundo lavado en cinco cambios en agua tridestilada, el material fué llevado a deshidratación en una serie gradual de alcoholes, seguido de la primera sustitución en el líquido Freón 113. La deshidratación en alcohol etílico y la sustitución en Freón 113 se llevó a cabo utilizando el aparato modificado de intercambio (Austauschapparat) de Peters (1980) según las indicaciones de Franz (1981).

Para el desecado del material, los preparados fueron colocados en el aparato desecador-punto crítico, E3000 Polaron, dejando correr el proceso de acuerdo a las especificaciones denotadas por Reimer y Pfefferkorn (1973). En este caso, el líquido Freon 113 fué remplazado por Freon 13 que presenta favorablemente un punto crítico más bajo. El punto crítico de esta nueva solución fué alcanzado a 28 °C y 38 atm de presión, necesitando para ello un tiempo aproximado de 30 minutos. De hecho, el proceso completo tuvo una duración aproximada de dos horas hasta obtener las muestras totalmente desecadas.

Tanto los gusanos adultos como las microfilarias fueron montadas en soportes de aluminio por medio de una cinta de doble superficie adhesiva, sólo las microfilarias fueron primeramente fijadas en piezas de vidrio cortado y luego adheridas a los soportes metálicos para el MEB.

Para favorecer la conducción electrónica, las muestras estudiadas fueron comunicadas con la cinta-pegamento y los soportes de aluminio mediante la aplicación de un puente de pintura de plata.

Por último, las preparaciones desecadas y montadas fueron recubiertas con una capa de oro (capa de 15-20 nm de espesor, a 20 mA de intensidad y durante 3 minutos de irradiación) con un aparato sombreador (cobertor iónico para metales) MED 010 de la marca Balzers.

Las observaciones de los preparados fueron realizadas en un Philips PSEM 500, trabajando a una velocidad de aceleración de voltaje de 6-12 KV, con una velocidad de barrido de línea de 64 mseg. Las fotografías fueron tomadas con una cámara Olympus OM-1 y película ILFORD PAN F blanco y negro de 25 mm.

3.2.5.- Investigación de la estructura fina de la cutícula y del esfago de los gusanos adultos mediante la microscopia electrónica de transmisión (MET).

Las observaciones de la cutícula fueron realizadas a partir de cuatro secciones transversales y una longitudinal de un gusano hembra y un gusano macho, respectivamente, los cuales fueron fijados y postfijados por las técnicas utilizadas para la microscopia electrónica de barrido. Estas secciones fueron deshidratadas por los métodos convencionales e incluidas en bloques de ERL, como lo describió Spurr (1969). Los bloques preparados fueron enderezados y encuadrados a mano bajo el microscopio estereoscópico. Los cortes ultrafinos fueron hechos con un ultramicrotomo Reichert OM-U3, utilizando cuchillas de vidrio. Los cortes obtenidos fueron contrastados de acuerdo a los procedimientos descritos por Reynolds

(1963), donde las soluciones de acetato de uranilo en metanol al 70 por ciento y citrato de plomo se utilizan como medios ideales.

Para las determinaciones de la estructura fina del esófago fueron utilizados sólo los cortes transversales correspondientes a la porción anterior del gusano hembra, el cual fué simultáneamente estudiado con la ayuda de los cortes semifinos mencionados en las secciones anteriores de este trabajo.

Las microfotografías de esta sección fueron tomadas con una cámara Kodak, con película de grano fino, en un Philips EM 200 (velocidad de aceleración de voltaje de 80 KV).

NOTA: Para la investigación taxonómica (ordenamiento sistemático de la especie estudiada) fué utilizado el criterio más reciente para la clasificación de las filarias de Anderson y Bain (1976), editado en las aportaciones científicas CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates (Anderson-Chabaud-Willmott) del Commonwealth Agricultural Bureaux, St. Albans, Reino Unido de la Gran Bretana, contando además con la asesoría directa del Prof. Dr. R. Muller, jefe del Departamento de Parasitología del mismo Commonwealth Institute of Parasitology, quien personalmente verificó la información rendida en este trabajo y reafirmó la determinación de la especie nueva de Dunnifilaria aquí presentada.

4.- R E S U L T A D O S

4.1.- Demostración histológica de los gusanos en el hospedero.

4.1.1.- Localización de los gusanos.

En la presente investigación se reconoce que es sólo a nivel del tróncο de la masa cerebral (cerebelo y médula oblonga) el sitio habitual en que se alojan los gusanos adultos de la especie nueva de Dunnifilaria. Este razonamiento se establece por la demostración directa de los gusanos en los mismos cortes transversales de los tejidos animales implicados (Laminas 2 y 3).

Particularmente, los gusanos yacen libremente enrollados lo largo de los espacios subaracnoideos, donde en ninguno de los casos se presenta la excepción de invadir corteza cerebelar y/o m- dular, lo que respalda el hecho de que esta infección (denominada por el autor; filarías cerebral) se limita únicamente a la suave capa leptomeníngea que recubre directamente los órganos nerviosos centrales del hospedero Neotoma.

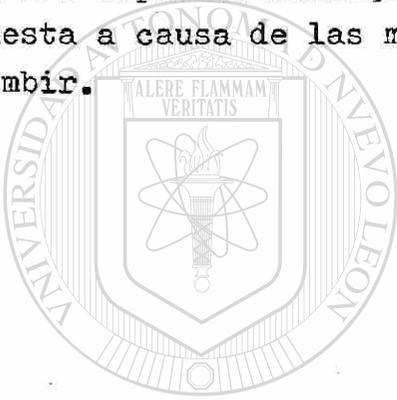
La sección transversal de la médula oblonga completa (Lamina 2 A-E), examinada bajo el microscopio de luz, muestra la disposición secuencial y ordenada de seis porciones oblicuas y transversales (señaladas con flechas sencillas) de un solo gusano que fué rápidamente identificado como una filaria hembra en estado grávido.

En contraste, no menos de dos gusanos adultos; un gusano macho y por lo menos una hembra grávida, son descritos para los espacios subaracnoideos de la porción cerebelar de la misma pieza cerebral (ejemplar Nr. 3) estudiada (Lamina 3 A).

Por otra parte, no sólo los espacios periféricos que rodean la estructura arborecente del cerebelo se encuentran ocupados por los gusanos, sino que también aquellos que penetran en forma de comisuras o circunvoluciones primarias (Lamina 3 A-D) y los destinados a la porción del puente cerebelar (Lamina 3 E).

4.1.2.- Histopatología de la infección.

Aunque fueron varios los gusanos que se encontraron ocupando los espacios subaracnoideos del cerebelo y médula oblonga, los daños en estos tejidos (provocados por la supuesta acción agresiva del invasor) resultaron ser nulos. Tampoco se observaron reacciones de inflamación ni infiltrados celulares de la respuesta-mediada en los tejidos adyacentes a los gusanos, por lo que probablemente, esta infección no reviste mucha importancia en el acontecer patológico del hospedero. Esto sin embargo, " sólo mientras los gusanos se mantengan vivos (como fueron los casos estudiados aquí)", pues es claro de esperar que la presencia de gusanos muertos (atrapados en los espacios meningiales) lleguen a provocar reacciones de respuesta a causa de las modificaciones que sufren los gusanos al sucumbir.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



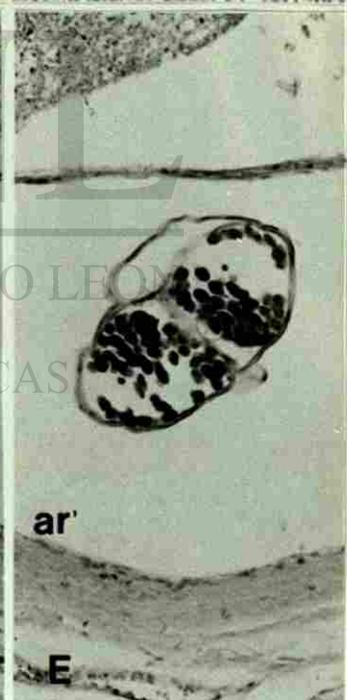
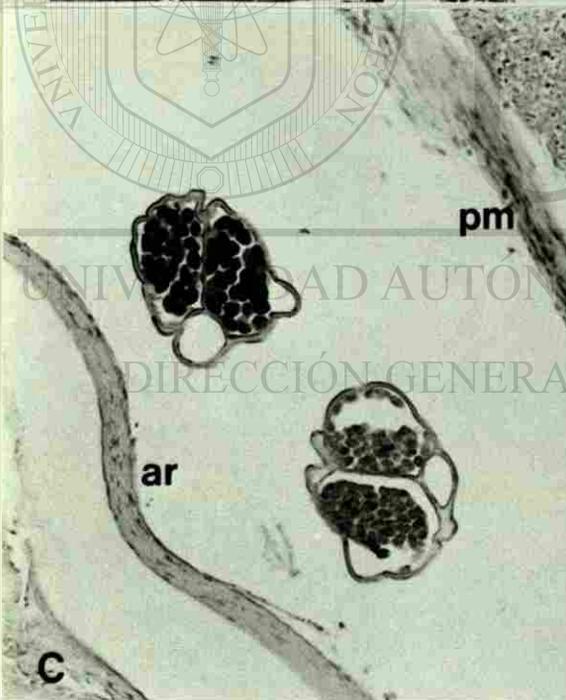
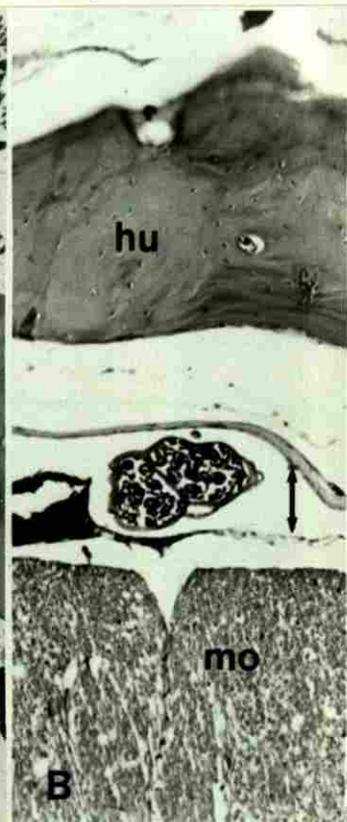
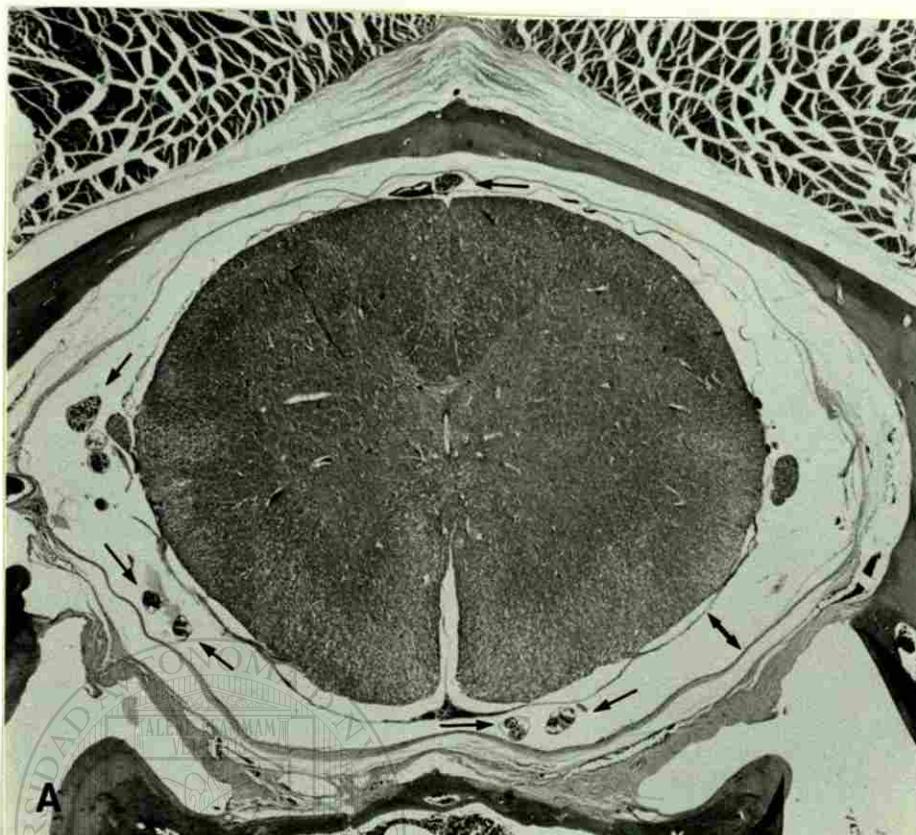
LAMINA 2.- Microfotografías de un corte histológico transversal através de la médula oblonga de un hospedero-roedor (Neotoma micropus) nativamente infectado con gusanos adultos de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

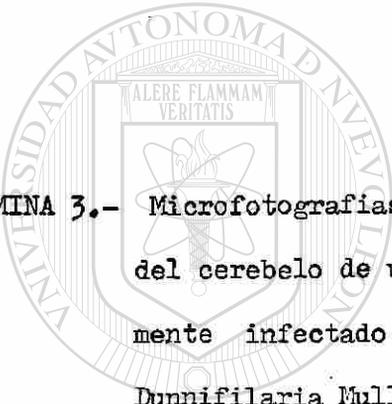
A.- Microscopia de luz (ML): Sección transversal de la médula oblonga completa (20 X). Las flechas sencillas señalan la lo-

calización de seis porciones de un gusano hembra grávido, mientras que la doble flecha denota el espacio subaracnoidal en la capa leptomenígea.

B.- ML: Acercamiento de una de las secciones transversales anteriores del gusano (110 X) indicando la clara localización subaracnoidal (flecha doble). Se distinguen también la capa cortical de la médula oblonga (mo) y la correspondiente al hueso (hu).

C-E.- ML: Acercamientos de las porciones restantes del gusano (160 X en cada acercamiento). Aracnoides (ar). Piamadre (pm).



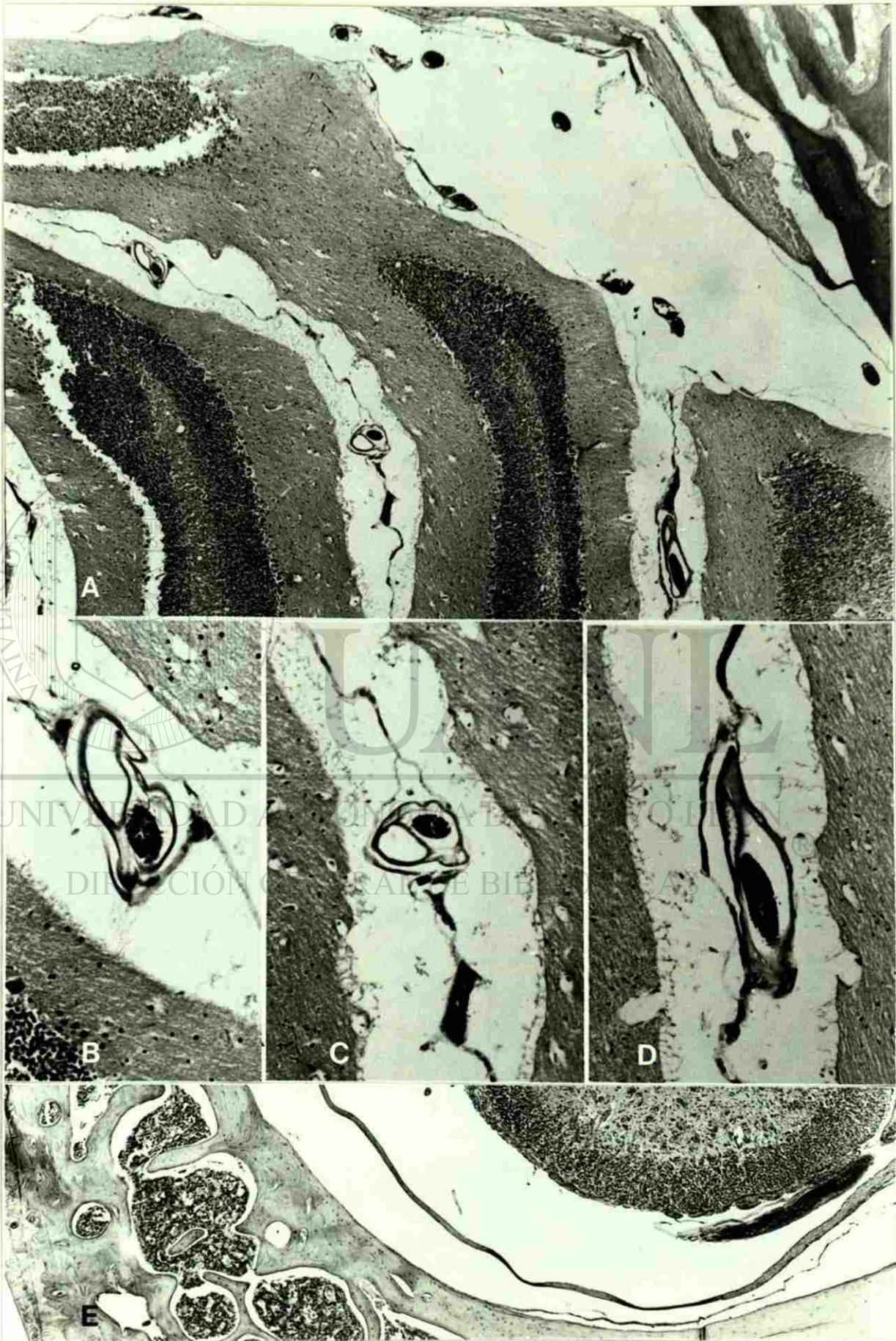


LAMINA 3.- Microfotografías de un corte histológico transversal através del cerebelo de un hospedero-roedor (Neotoma micropus) nativamente infectado con gusanos adultos de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- ML: Vista panorámica de una de las secciones transversales del cerebelo (50 X).

B-D.- ML: Acercamientos de algunas porciones de los gusanos a nivel de la capa leptomenígea de las comisuras primarias cerebelares (125 X).

E.- ML: Vista panorámica de una sección transversal del puente cerebelar (50 X) mostrando una sección longitudinal de un gusano hembra grávido.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECA Y ARCHIVO

4.2.- Descripción morfológica de la especie nueva de Dunnifilaria mediante la ML, MEB y MET.

4.2.1.- Morfología.

4.2.1.1.- Estructuras de la superficie cuticular de las porciones anteriores y medias de los gusanos adultos.

En ambos sexos, la extremidad cefálica es claramente distinguida del resto del cuerpo por el abotonamiento brusco de éste en las primeras 20-25 μm . Por consecuencia, la estructura más anterior adopta la apariencia de una cabeza firme y ligeramente elevada (Laminas 4 B-C y 8 C-D). Vista de frente (Laminas 4 C-E y 8 D), la cabeza muestra contornos circulares (redonda) de un diámetro aproximado de 30 μm . La apertura oral, de forma elíptica y con diámetros que oscilan entre 1.5-2 μm por 2.5-3 μm , se localiza en la línea media frontal (Laminas 4 B-E y 8 C-D). Un grueso anillo peribucal de origen cuticular, con un diámetro aproximado de 0.3-0.4 μm , rodea a esta apertura (Laminas 4 B-E y 8 D). Dos pares de papilas submedianas internas (bucales) yacen a una distancia aproximada de 1-1.5 μm del anillo peribucal, mientras que un segundo juego de dos pares de papilas submedianas externas (cervicales) aparecen a una distancia de 12-16 μm del anillo mencionado. Las papilas del círculo interno (Laminas 4 D-E y 8 C-D) miden de 1 a 1.5 μm de diámetro. Ellas están delimitadas por un surco o hendidura que rodea una abultada masa central que se proyecta claramente compacta. Por su parte, las papilas del círculo externo (2 μm de diámetro) están formadas por un ligero borde o cordillera que encierra la compacta masa central (Laminas 4 D y 8 D). Las dos aperturas anfidiales (Laminas 4 D-E y 8 C-D), dispuestas dorsoventralmente, están localizadas a ambos lados de la apertura oral (entre los dos círculos papilares) a una distancia de 5 μm del anillo peribucal. El denominado "pore-like" anfidial (Lamina 4 E) está formado por una fisura alargada de 0.5 μm de ancho por 2.5 μm de largo.

Por otra parte, al igual que como ocurre con las estructuras de la terminación anterior (descritas arriba), la estructura fina de la superficie corporal (cutícula) de los gusanos resulta también bastante semejante entre ambos sexos. Por esta razón, ella se des-

cribe unicamente en esta sección tomando en cuenta que esta no presenta variaciones morfológicas a lo largo de todo el cuerpo.

Bajo la microscopia de luz y/o en pequenos aumentos con el MEB y MET, la cutícula de los gusanos aparenta ser completamente lisa. Pero ya por encima de los 4000 X (MEB y MET), la misma cutícula resulta con finas estriaciones transversales (Lamina 5 B-D y F) que van de 0.2 a 0.3 μm de ancho. En algunas imágenes del MEB (Lamina 5 D), las finas estrias simulan estar arregladas en parejas que se unen por medio de un canal central (y uno más entre cada pareja) más profundo y menos iluminado formando una estructura anular mucho más amplia (hasta 0.7 μm de ancho).

En contraste, en las imágenes del MET (Lamina 5 F), las mismas estrias resultan claramente denotadas como bordes transversales sencillos que se elevan sólo ligeramente de la delgada cutícula alcanzando una altura aproximada de 0.13 μm , por 0.25 μm de ancho.

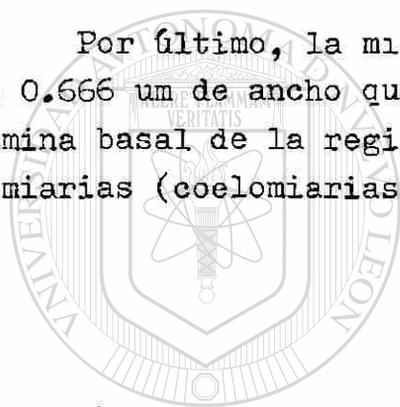
Por otro lado, sobre el costado derecho de los gusanos machos (al menos claramente observado en ellos) es común encontrar una comisura de unión entre las estrias (Lamina 5 B). Ella recorre longitudinalmente el cuerpo hasta deformarse en la punta de la extremidad posterior. La comisura está formada por un acúmulo de enlaces y dobleces de las estrias dando la apariencia de una línea de costura resaltada.

La estructura fina de la pared del cuerpo de los gusanos muestra una cutícula extremadamente fina (con apenas una micra de espesor) compuesta por tres capas que de afuera a adentro son enumeradas para facilitar su descripción en este trabajo (Lamina 5 E y F). La capa uno (más externa), que corresponde a las anulaciones cuticulares, llega a alcanzar un espesor aproximado de 0.156 μm , en tanto que la capa dos (intermedia), que resulta algo mayor, asciende a 0.291 μm . Ambas capas (1 y 2), de aspecto bastante aterronado, se hayan claramente delimitadas por una línea electrónicamente más densa, la cual en secciones longitudinales aparece definitivamente en la base de las estrias cuticulares (Lamina 5 F).

La tercera capa (más interna), que aparece electrónicamente menos densa e indistintamente separada de la anterior (intermedia), rinde con un espesor aproximado de 0.375 μm para constituir la capa más ancha de la cutícula. En esta última capa y por debajo de la intermedia yacen numerosas estructuras vesiculares (Lamina 5 E) que en los cortes longitudinales se disponen a lo largo de la pared corporal (Lamina 5 F).

En adición a esto, la porción basal de la capa tres está constituida por una serie de bordes irregulares y apinados que dan origen a un numeroso grupo de haces fibrilares que se extienden a través de la hipodermis (Lamina 5 E).

Por último, la misma hipodermis está formada por un sincicio de 0.666 μm de ancho que yace entre la tercera capa cuticular y la lamina basal de la región contráctil de las células musculares poliméricas (coeloméricas) (Lamina 5 E).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

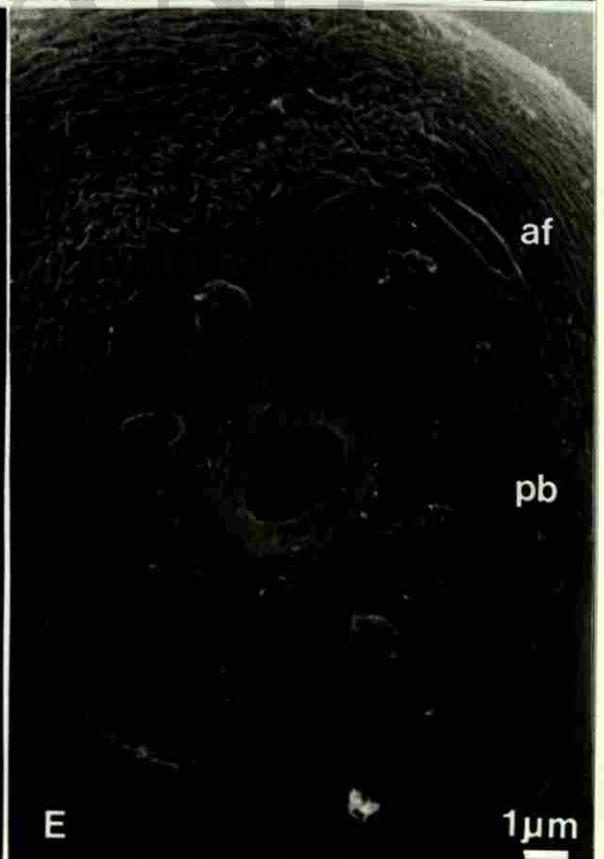
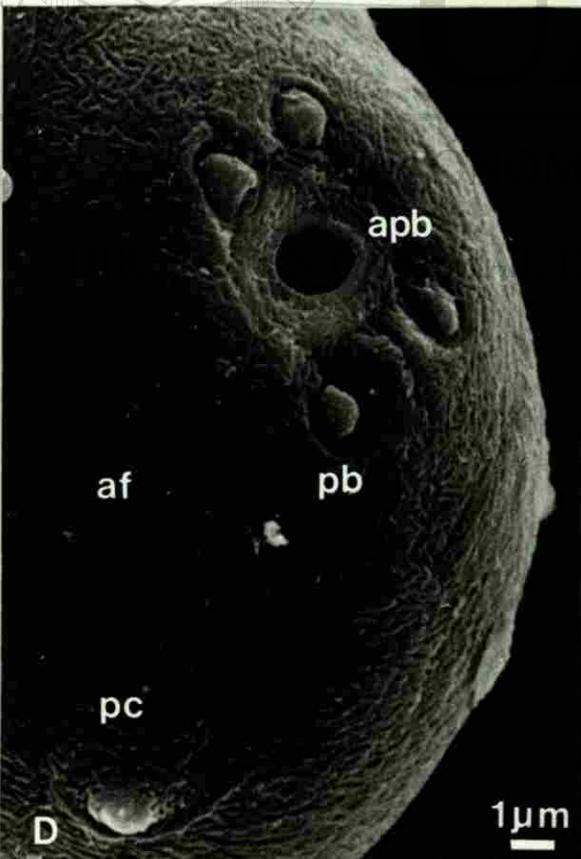
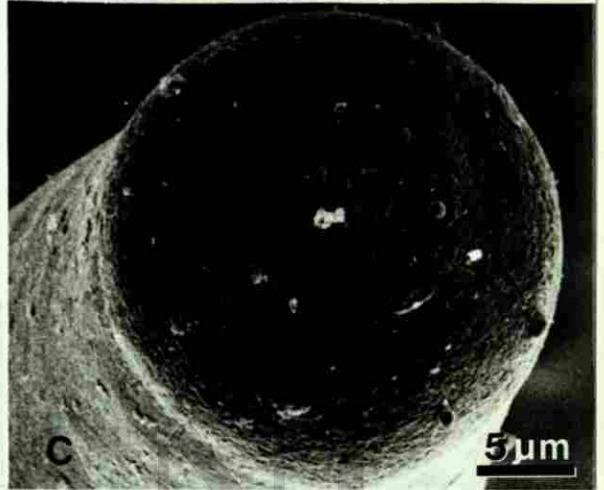
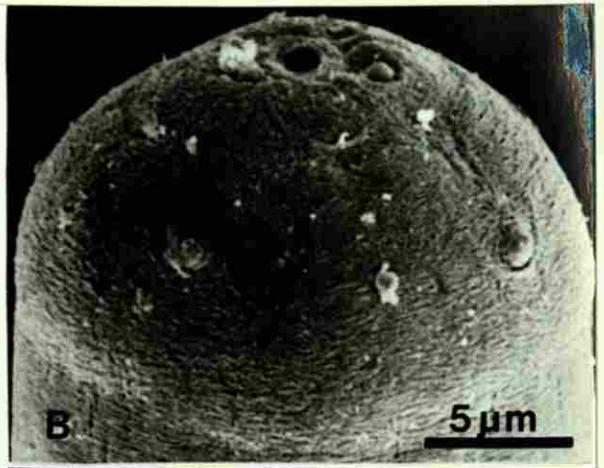
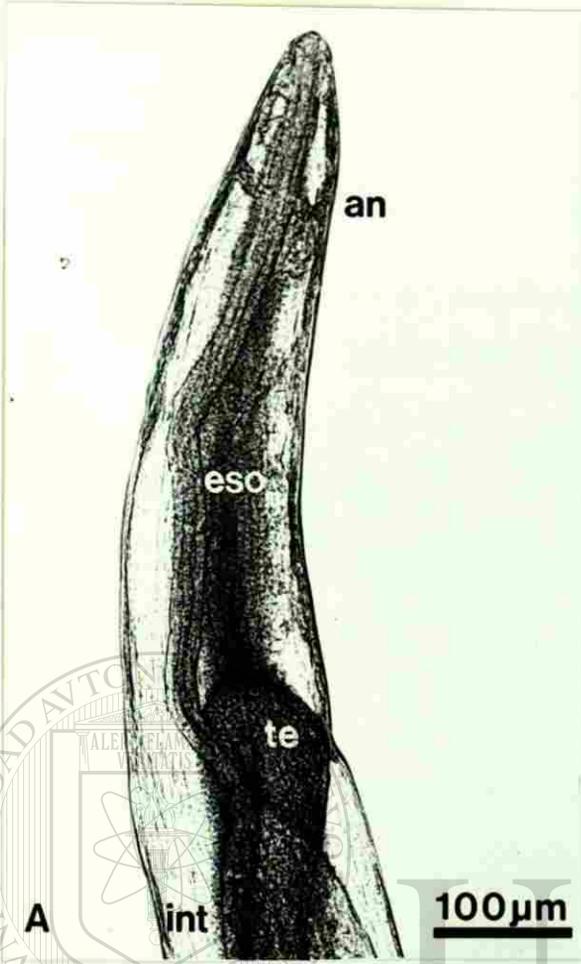


LAMINA 4.- Microfotografías de la extremidad anterior de los gusanos machos de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- ML: Extremo anterior de un gusano macho mostrando la disposición del anillo nervioso (an), esófago largo-no distintamente dividido (eso), y las porciones anteriores del testículo (te) e intestino (int).

B.- Microscopia electrónica de barrido (MEB): Vista lateral de la porción cefálica (cabeza) de un macho.

C-E.- MEB: Vistas frontal y oblicua de la región cefálica donde se denotan claramente la apertura oral, el anillo peribucal (apb), el círculo interno de papilas bucales (pb), el círculo externo de papilas cervicales (pc), y el par de aperturas anfíales (af).



LAMINA 5.- Microfotografías de la superficie y estructura fina cuticular de algunos gusanos de ambos sexos de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- MEB: Vista panorámica de la superficie cuticular en la región media del cuerpo de un macho.

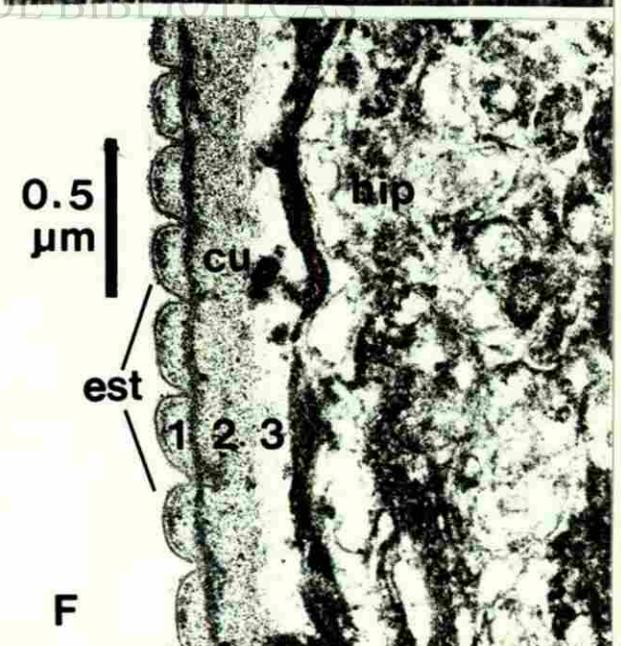
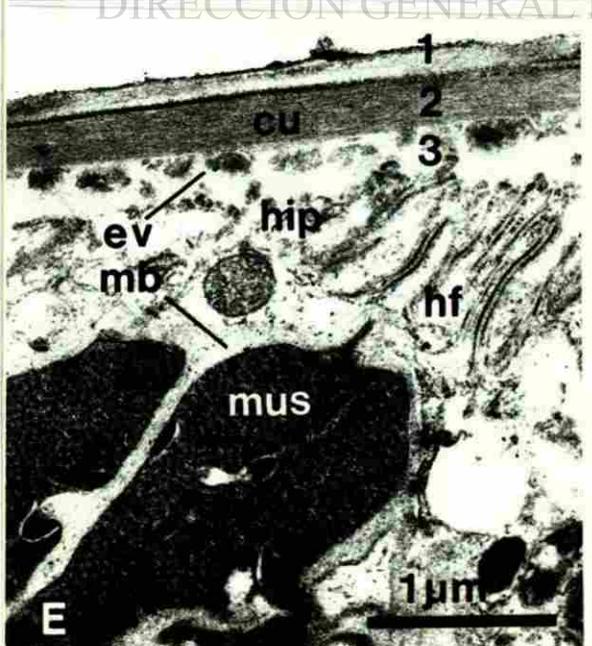
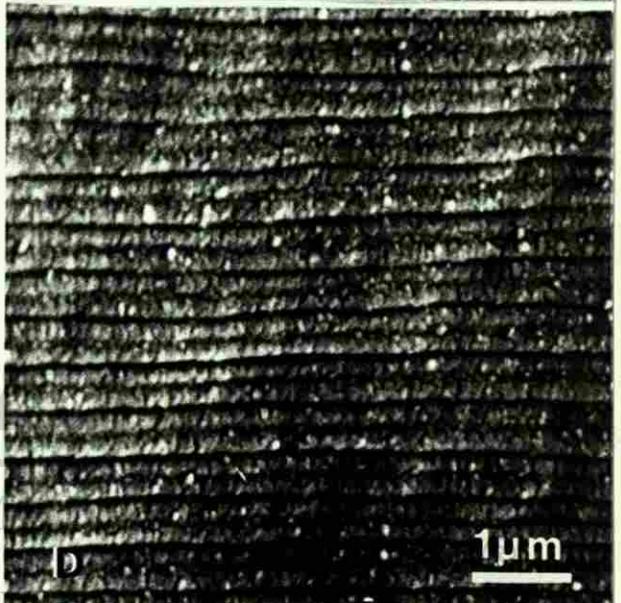
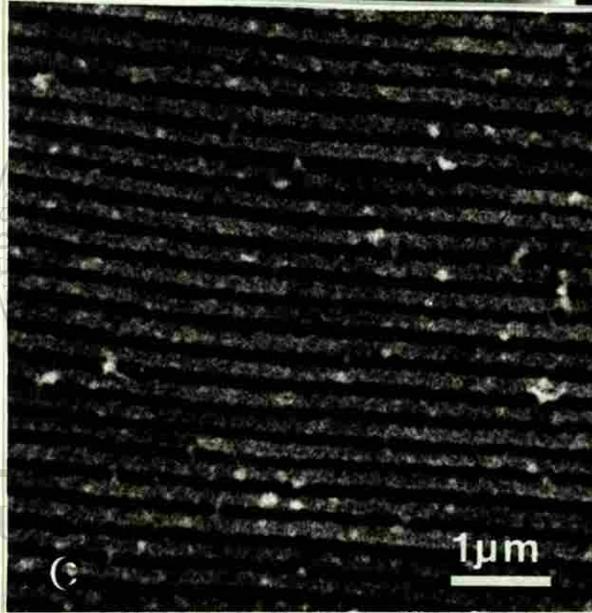
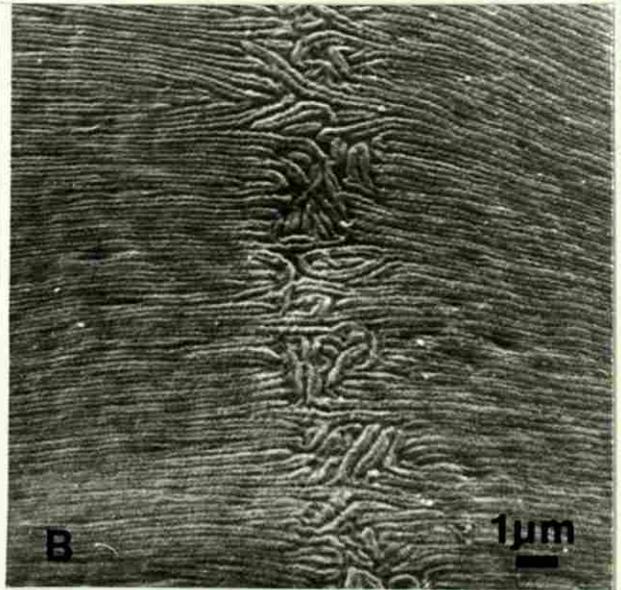
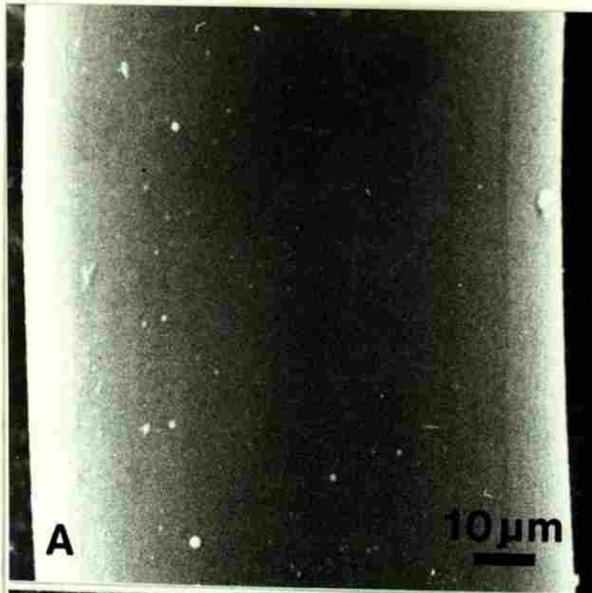
B.- MEB: Vista lateral de la superficie cuticular en la región posterior del cuerpo de un macho (precloacal) mostrando la comisura de unión de las estrias.

C-D.- MEB: Disposición, forma y dimensiones de las estrias cuticulares en la región media del cuerpo de un gusano macho y un gusano hembra, respectivamente.

E.- Microscopia electrónica de transmisión (MET): Sección transversal de la estructura fina de la cutícula en la región posterior de

un gusano hembra. Cutícula (cu) extremadamente fina mostrando las tres capas cuticulares (1, 2 y 3) y las estructuras vesiculares (ev) de la capa tres. Sincicio hipodérmico (hip) con haces fibrilares largos (hf). Lamina y membrana basal (mb) de las células musculares colomarias (mus) de la pared del cuerpo.

F.- MET: Sección longitudinal de la estructura fina cuticular en la región posterior de un gusano macho señalando las estrias transversales (est) de la cutícula (cu), las tres capas cuticulares (1, 2 y 3) y la hipodermis (hip).



4.2.1.2.- Gusanos machos.

Holotipo macho: Cuerpo de 31.5 mm de largo, por 0.12 mm de ancho; esófago, 0.71 mm de largo; cola, 0.17 mm de largo; espícula izquierda, 0.07 mm de largo; espícula derecha, 0.06 mm de largo; proporción de las espículas, 1.19:1; distancia del anillo nervioso a la terminación anterior, 0.17 mm.

Nota referente: Estos datos corresponden al catálogo taxonómico de la especie descrita (presentado en la sección 4.3.2.) y a la información rendida por el autor (Gutiérrez, en impresión) en su publicación que aparecerá en la revista científica; *Tropical Medicine and Parasitology* (1987).

Machos (15 especímenes): Con mediciones promedio (expresadas en milímetros y porcentajes), el cuerpo de los gusanos asciende a una longitud total de 25 mm (100 %), por 0.14 mm (0.5 %) en su diámetro máximo. El esófago es moderadamente largo, 0.60 mm (2.4 %), e indistintamente dividido. El anillo nervioso se encuentra dispuesto a 0.16 mm (0.6 %) de la terminación anterior del cuerpo (Lamina 4 A). La cola es larga (Lamina 6 A-E), 0.18 mm (0.7 %), comenzando en la apertura cloacal para terminar en la punta de la extremidad posterior del cuerpo.

La cloaca (Lamina 7 C, F y G) está formada por una fisura flexible de aspecto semicircular con bordes ligeramente elevados. Ella mide 10 um por 15 um y se dispone ventralmente. En la mayoría de los casos, la cloaca pierde su forma habitual a causa de la salida del corto, grueso y rígido par de espículas copulatorias.

Por encima de la cloaca yace una gran papila central de contornos elípticos (Lamina 7 C, D y G). Ella está formada por una masa central compacta de 5 um de largo por 3 um de ancho que se ve rodeada por una red de trabéculas cuticulares. En algunos especímenes se puede encontrar que esta papila ocupa un sitio más cercano a la cloaca (Lamina 7 C).

Con la microscopia compuesta de luz se observa que las espículas semejan un par de estructuras rígidas, cortas, ligeramente curvadas y adoptando la apariencia de hojas de navaja (Lamina 6 A y Lamina 7 A-B). La longitud promedio de la espícula izquierda es de 0.07 mm (0.3 %), mientras que para la espícula derecha de 0.06 mm (0.2 %). Por su parte, con la MEB se demuestra que cada espícula asemeja la forma de la hoja (punta) de un lapicero-tinte ro, donde el extremo apical de ambas aparece abotonado. El cuerpo posterior de éstas adopta la forma de hojas enrruladas (firmes) que dan lugar a un canal interno al plegarse entre sí sus bordes más adelgazados (Lamina 6 B-C y Lamina 7 C y F).

El número, tamaño y forma de las papilas caudales es bastante constante (Lamina 6 B-C), sólo la disposición o arreglo simétrico de éstas varía en algunos casos. Los cuatro pares de papilas sésiles caudales se encuentran arregladas en dos pares perianales y dos pares postanales (sin incluir la papila central de la porción anterior a la cloaca). La forma de las papilas resulta bastante típica (Lamina 7 E), ellas son semicirculares y están conformadas por una materia amorfa central (de aproximadamente 3 μ m por 1.5 μ m) que se ve rodeada por una red anular de finas trabéculas cuticulares de 2 μ m de diámetro.

Por último, la estructura semifina de la porción media (transversal) de los gusanos machos (Lamina 12 A) muestra la forma semilunar de los amplios cordones laterales nerviosos que llegan a ocupar casi la longitud media de la pared corporal, la cual aparece extremadamente adelgazada. También, un amplio testículo cilíndrico es demostrado desplazando marginalmente al sinuoso y delgado tubo intestinal.

NOTA: Para la morfometría de los gusanos machos ver la Tabla 1.



LAMINA 6.- Microfotografías de la extremidad posterior de los gusanos machos de la especie nueva de Dumnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

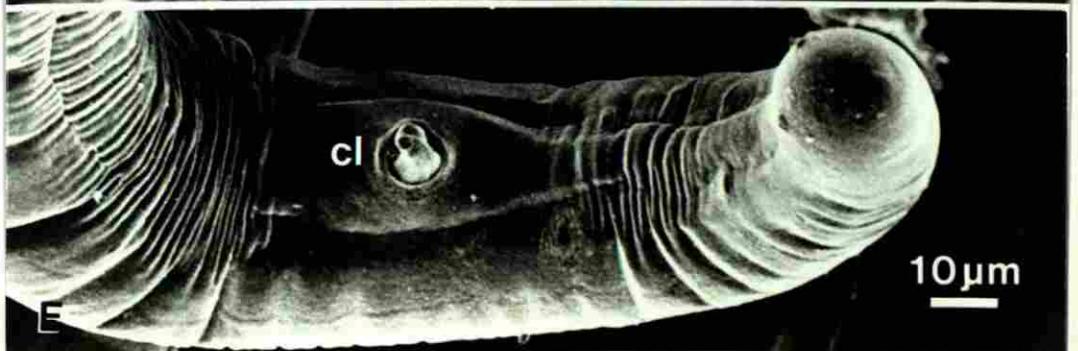
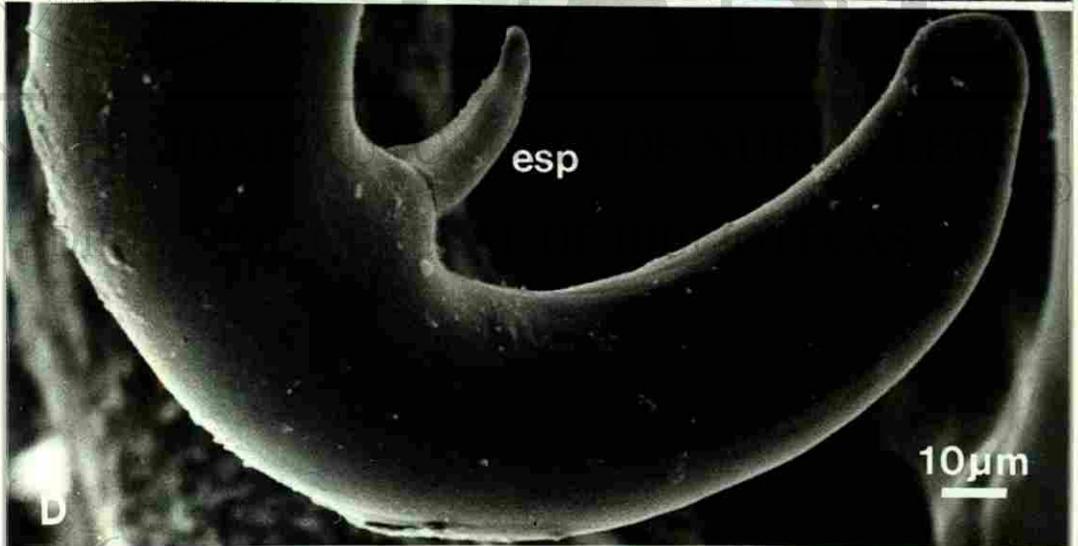
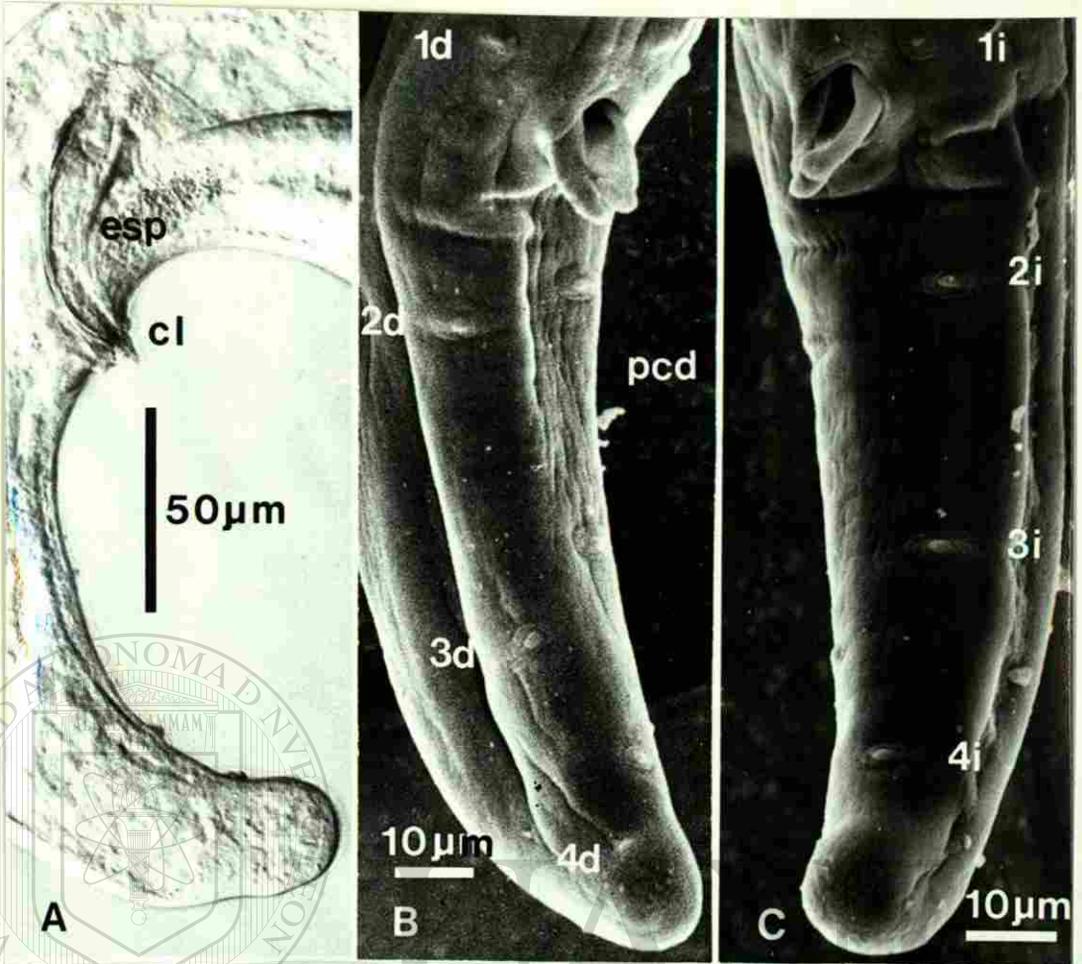
A.- ML: Vista lateral de la cola de un gusano macho. Espículas (esp). Cloaca (cl).

B.- MEB: Vista ventrolateral derecha del extremo posterior de un macho (cola) mostrando el arreglo de las papilas caudales (pcd) derechas (1-4d).

C.- MEB: Vista ventrolateral izquierda del extremo posterior del mismo gusano macho mostrando el arreglo de las papilas caudales izquierdas (1-4i).

D.- MEB: Vista lateral derecha de la cola de un macho. Espículas (esp).

E.- MEB: Vista ventral de la cola de un macho. Cloaca (cl).



LAMINA 7.- Microfotografías de la región cloacal de los gusanos machos de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A-B.- ML: Secciones ventral y lateral del extremo posterior de un gusano macho mostrando la forma y dimensión del par de espículas copulatorias. Espícula izquierda (esp i).

C.- MEB: Región perianal de un gusano macho con el correspondiente par de papilas perianales izquierdas (1-2i) e indicando con una flecha la localización de la única papila central que se dispone siempre en la porción anterior (ant) de la cloaca. Espícula derecha (esp d).

D.- MEB: Vista ventral de la papila central (flecha).

E.- MEB: Vista ventral de la segunda papila perianal izquierda (2i).

F.- MEB: Sección dorsal del extremo apical de las espículas del mismo gusano. Espícula izquierda (esp i).

G.- MEB: Sección ventral de la superficie cloacal de otro gusano macho señalando la disposición más anterior (ant) de la papila central (flecha).

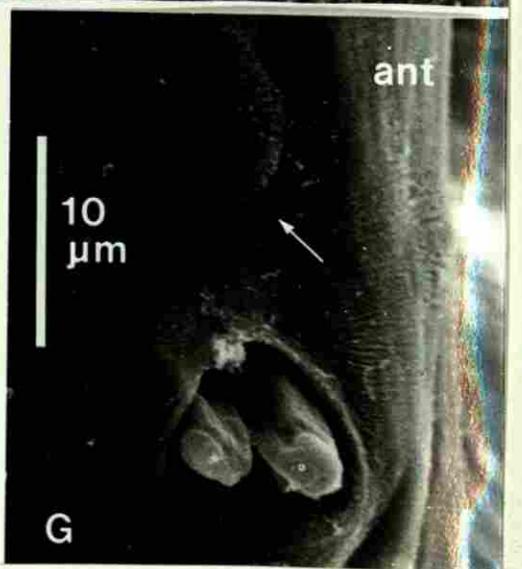
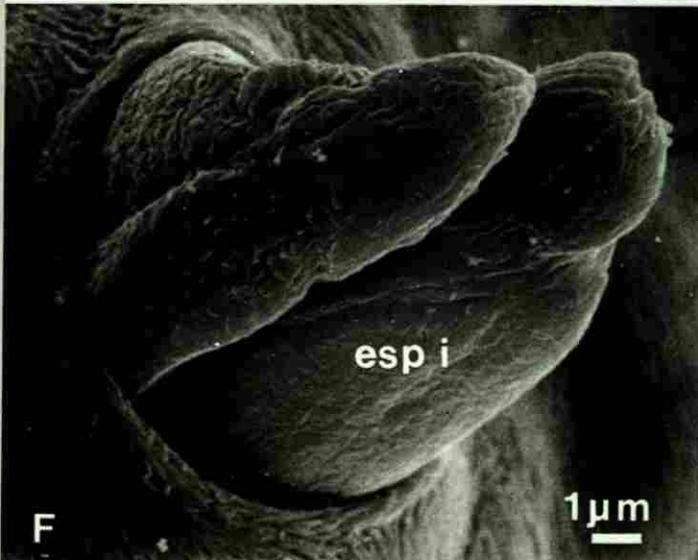
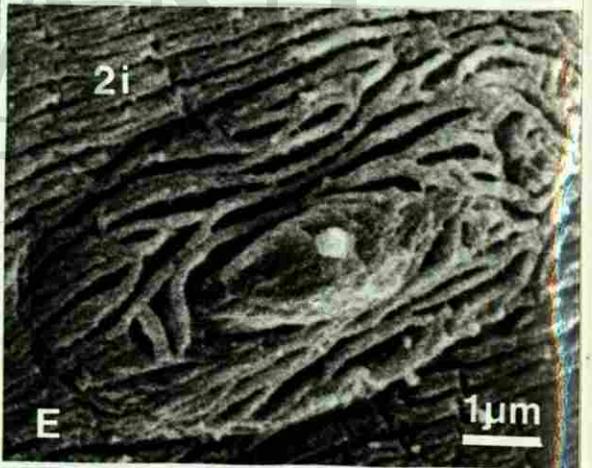
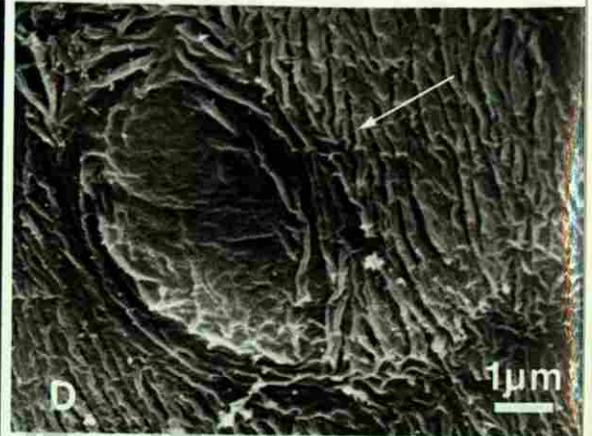
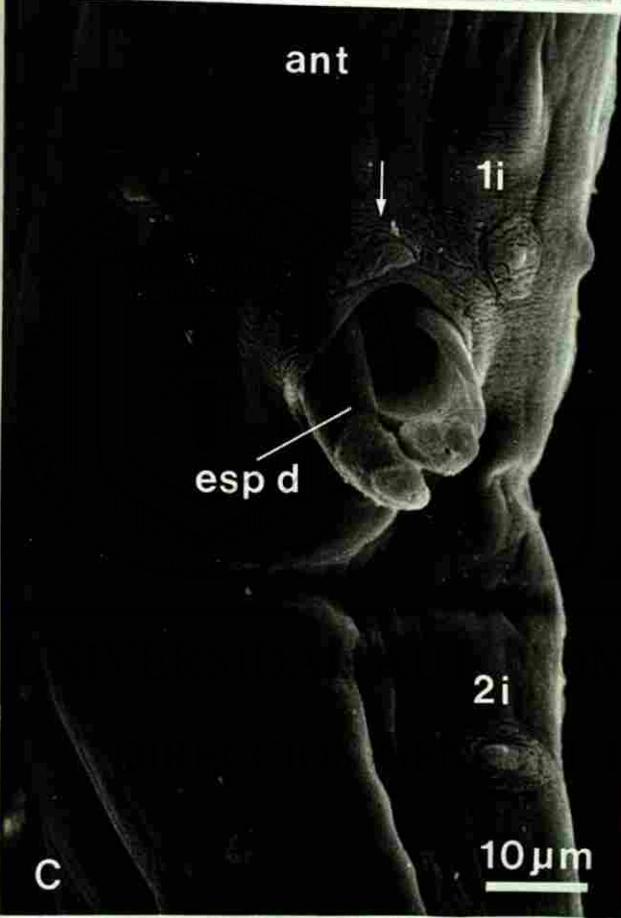
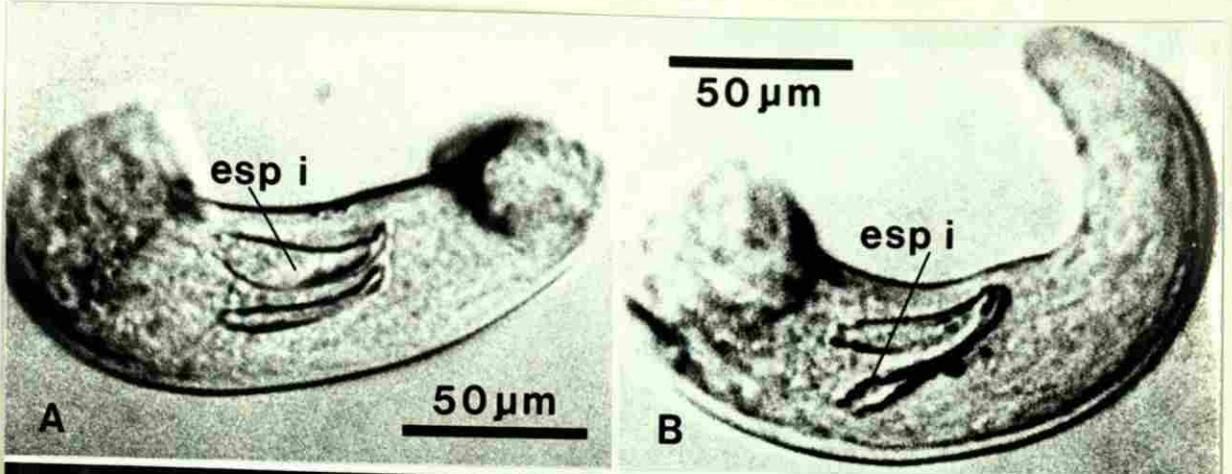


TABLA 1

Comparación morfométrica entre los gusanos machos de la especie nueva de Dunnifilaria, Dunnifilaria ramachandrani Mullin y Balasingam, 1973, y Dunnifilaria dilli Mak, 1979. Medidas expresadas en micras con excepción de la longitud total del cuerpo (milímetros). Porcentaje promedio en parentesis.

	<u>Dunnifilaria</u> sp.			<u>D. ramachandrani</u>			<u>D. dilli</u>		
	Rango	Prom.	(%)	Rango	Prom.	(%)	Rango	Prom.	(%)
Longitud del:									
cuerpo (mm)	12.8-38	25.2	(100)	9.6-14.8	13.6	(100)	11.8-19.7	14.9	(100)
esófago	480-710	589	(2.36)	500-950	650	(4.8)	635-740	687	(4.6)
porción mus.				75-100	-		185-200	202	(1.3)
cola	157-194	175	(0.69)	110-160	130	(0.95)	60-90	74	(0.4)
espícula izq.	57-78	67	(0.26)	70-90	77	(0.56)	70-95	81	(0.5)
espícula der.	47-63	57	(0.22)	65-80	70	(0.51)	60-85	71	(0.4)
Distancia de la terminación anterior al:									
anillo nervioso	110-197	160	(0.63)	60	(0.44)		110-175	146	(0.9)
Diametro max.	84-194	137	(0.54)	-			81-110	96	(0.6)
Propor. espic.	1-1.2:1	1.17:1		1.1:1			1-1.3:1	1.1:1	
Anchura del cuerpo a nivel de:									
anillo nervioso	52-94	75	(0.30)				44-58	51	(0.3)
unión eso-int.	73-178	122	(0.48)				60-90	74	(0.5)
Papilas caudales 2 pares perianales									
	2 pares postanales			4 pares postanales			2 pares postanales		

4.2.1.3.- Gusanos hembras.

Alotipo hembra: Cuerpo, 60.2 mm de largo, por 0.16 mm de ancho; esófago, 0.58 mm de largo; distancia del anillo nervioso a la terminación anterior, 0.16 mm; de la vulva, 0.58 mm; longitud de la cola no determinada.

-Con la misma nota-referente señalada para el holotipo macho.

Hembras (8 especímenes): La longitud total del cuerpo (medidas promediadas) es de 47.5 mm (100 %), con un diámetro máximo de 0.16 mm (0.3 %). El esófago es moderadamente largo, 0.60 mm (1.2 %), e indistintamente dividido. El lumen esofágico resulta recubierto por una gruesa capa cuticular (Lamina 9 A-D). El está formado al principio (porción glandular anterior) por una estructura cuticular birradiada (Lamina 9 A-B) que en el mismo esófago posterior (porción glandular posterior) adopta la forma trirradiada (Lamina 9 C). El anillo nervioso está situado a 0.15 mm (0.3 %) de la terminación anterior del cuerpo (Lamina 8 A), mientras que la vulva es localizada en la región postesofágica (Lamina 8 A-B) a 0.55 mm (1.1 %) del extremo anterior. En todos los especímenes estudiados, fué observada una marcada constricción-ventral del cuerpo en la porción ocupada por la vulva (Lamina 8 B y Lamina 10 A).

En las imágenes del MEB se observa que la vulva está constituida por una fisura externa ventral (de bordes finos y apariencia semicircular) y una fisura interna o vagina que se dispone longitudinalmente a la anterior (Lamina 10 A-B). La vulva mide aproximadamente 10 um por 8 um, mientras que la vagina; 7 um por 4 um.

Los úteros didélfico-opisthodélficos (Lamina 12 D-F) aparecen ordenadamente entrelazados (Lamina 10 C) corriendo longitudinalmente casi hasta ocupar la porción posterior del cuerpo (Lamina 11 A).

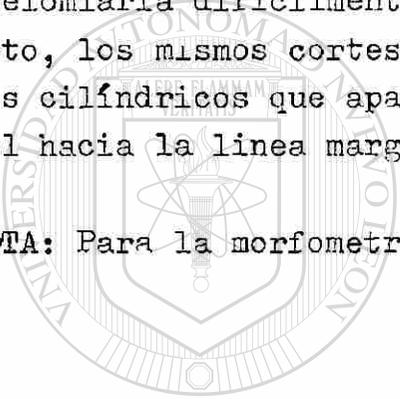
Por otra parte, el ano es localizado en la porción ventrolateral derecha a aproximadamente 170 um de la terminación posterior del cuerpo (posición subterminal) (Lamina 11 B-C). El está formado

por una fisura semicircular (Lamina 11 D) que llega a alcanzar un largo aproximado de 2.8 μ m, por 2.1 μ m de ancho (unicamente observado con la ayuda del MEB).

-Fasmides no demostradas en ambos sexos.

Los cortes transversales de la estructura corporal semifina en las distintas porciones de los gusanos hembras (Lamina 12 B-E) muestran comparativamente la misma conformación estructural que la descrita para los gusanos machos (4.2.1.2.). Sin embargo, en estas secciones son particularmente demostrados los dos cordones nerviosos medios, el esófago anterior birradiado y la clara musculatura coelomaria difícilmente distinguidos en los machos. En adición a esto, los mismos cortes muestran la vagina muscular y los dos úteros cilíndricos que aparecen desplazando el delgado tubo intestinal hacia la línea marginal de la pared del cuerpo.

NOTA: Para la morfometría de los gusanos hembras ver la Tabla 2.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



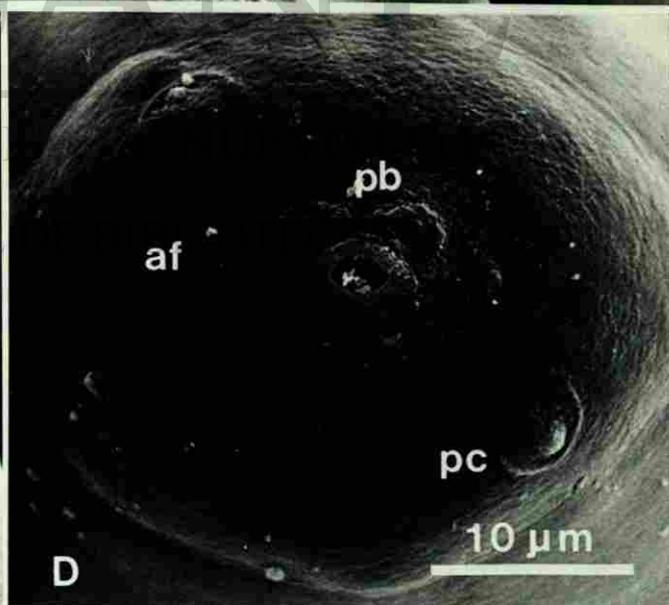
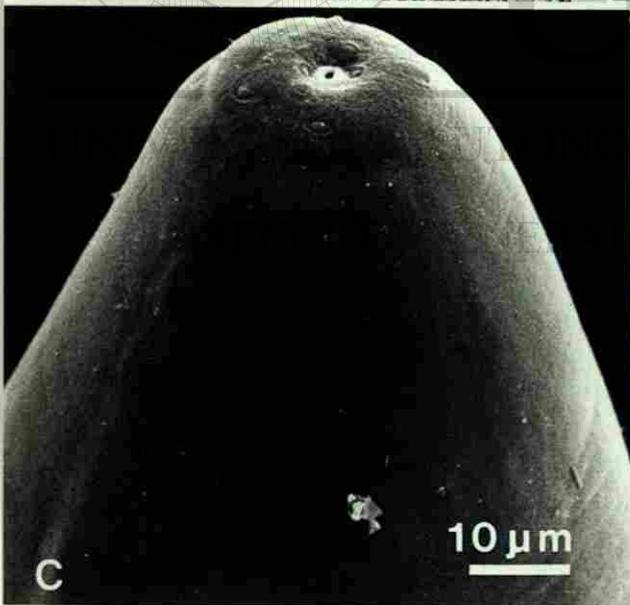
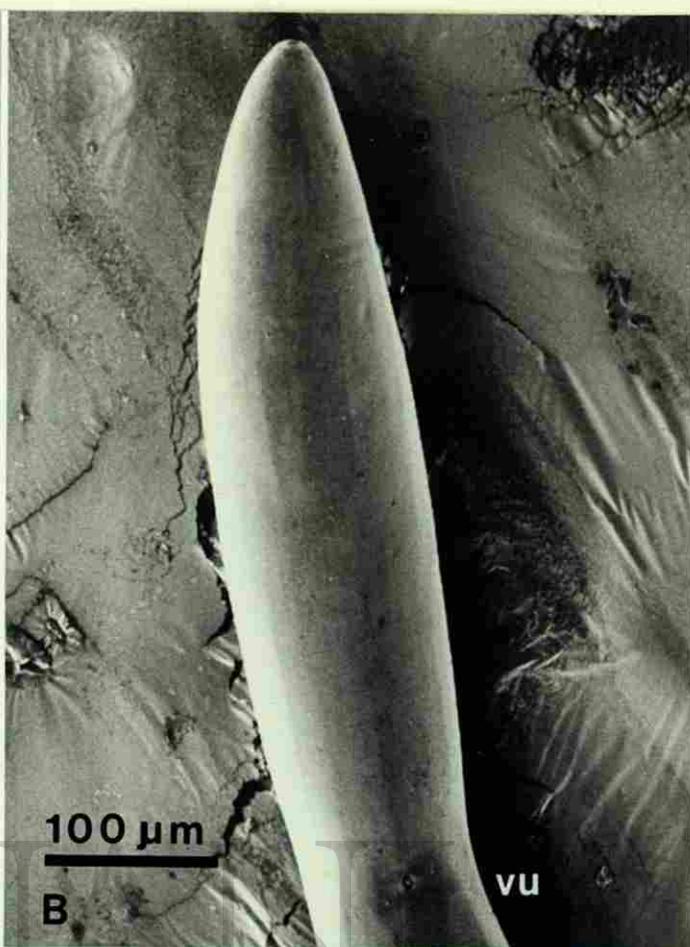
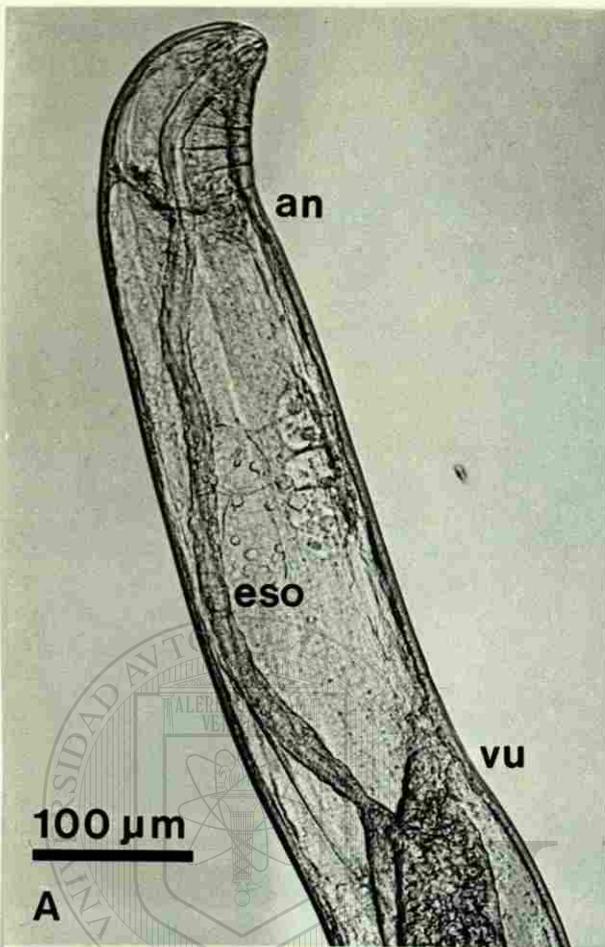
LAMINA 8.- Microfotografías de la extremidad anterior de los gusanos hembras de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- ML: Extremo anterior de un gusano hembra. Anillo nervioso (an). Esófago largo e indistintamente dividido (eso). Vulva (vu) localizada en la región postesofágica.

B.- MEB: Sección superficial del extremo anterior ventral de un gusano hembra mostrando la apertura vulvar (vu).

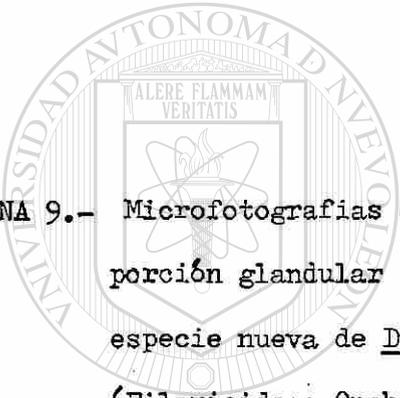
C.- MEB: Vista lateral del extremo cefálico (cabeza) de un gusano hembra.

D.- MEB: Sección frontal de la porción cefálica de un gusano hembra. Papilas bucales (pb). Papilas cervicales (pc). Aperturas anfidiales (af).



Micromorphology.

A. - (100x) Anterior transverse section of the head region showing the esophageal region (eso) and the vulva (vu).
B. - (100x) Longitudinal section of the vulva region (vu).
C. - (1000x) High magnification view of the anterior end.
D. - (1000x) High magnification view of the vulva region showing the vulval opening (vu), the vulval plate (vp), and the vulval muscle (vm).



LAMINA 9.- Microfotografías de algunas secciones transversales de la porción glandular del esófago de un gusano hembra de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

A.- ML: Corte transversal sé semifino de la porción anterior del esófago glandular mostrando la forma birradiada del lumen esofágico. ®

B.- MET: Corte transversal ultrafino de la misma porción esofágica estudiada.

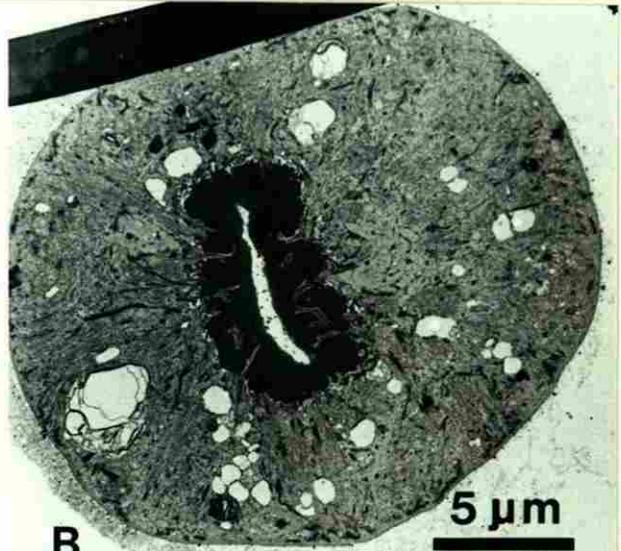
C.- ML: Corte transversal sé semifino de la porción posterior del mismo esófago glandular mostrando la forma trirradiada del lumen esofágico.

D.- MET: Corte transversal ultrafino mostrando la estructura fina del epitelio esofágico. Cutícula (cu). Fibras musculares (fm).



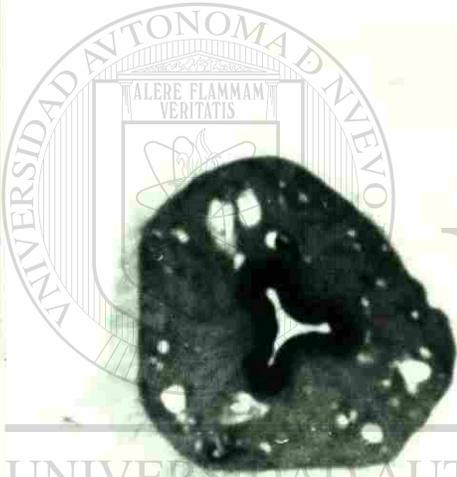
A

20 μ m



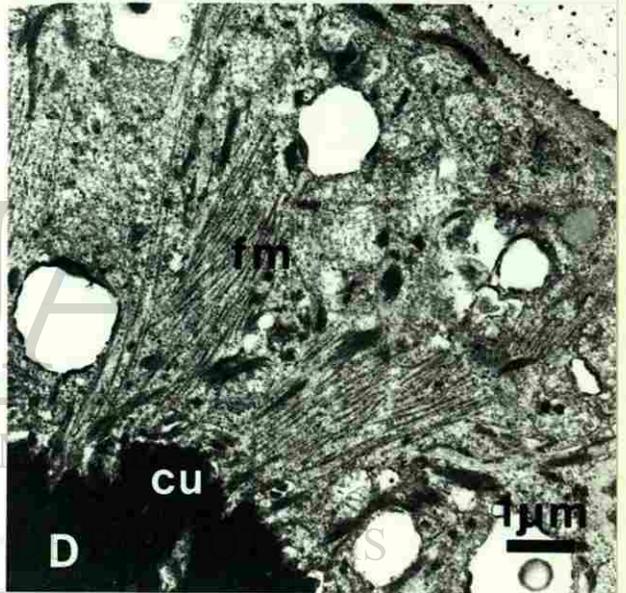
B

5 μ m



C

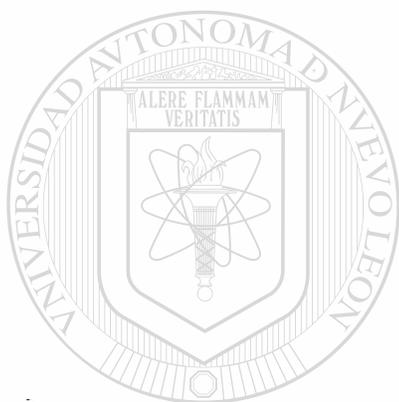
20 μ m



D

5 μ m

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
ALERE FLAMMAM VERITATIS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DIRECCIÓN GENERAL



UANL

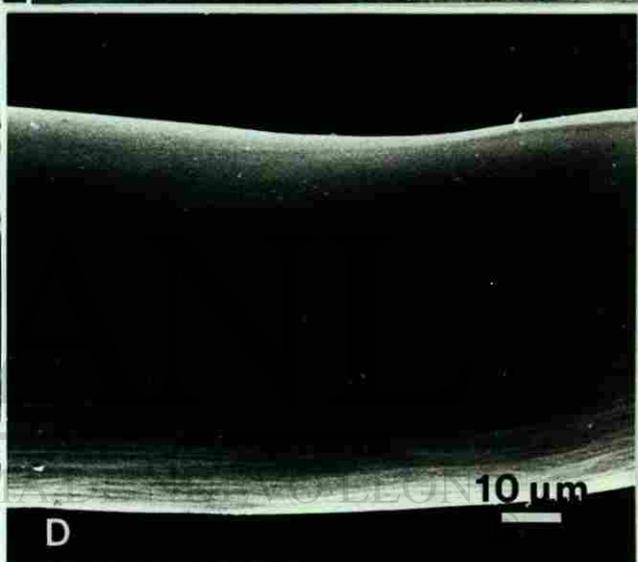
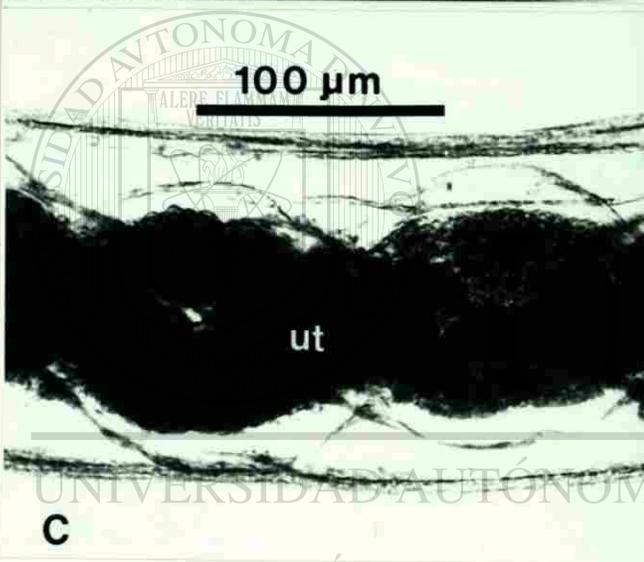
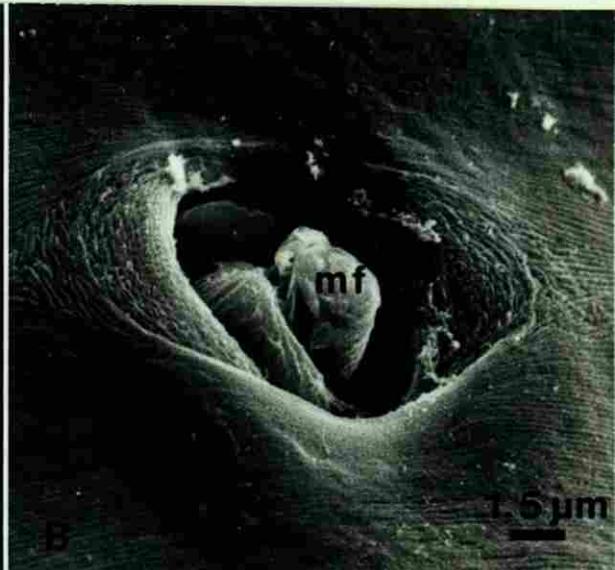
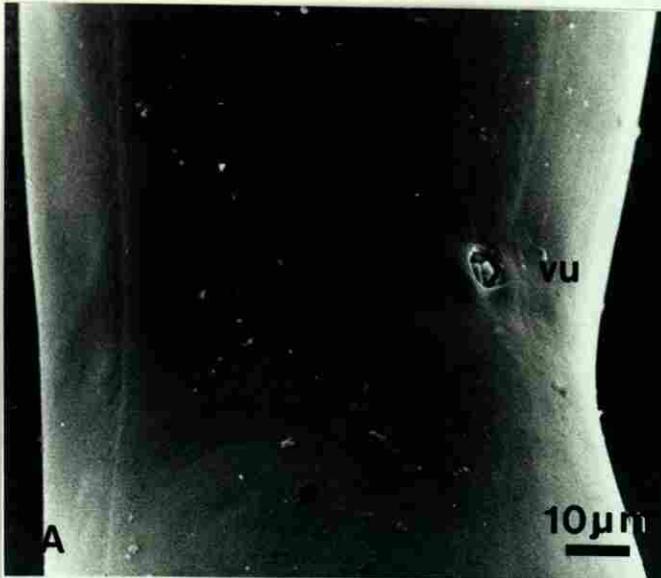
LAMINA 10.- Microfotografías de la porción vulvar y del cuerpo medio de los gusanos hembras de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- MEB: Vista panorámica de la región vulvar (vu).

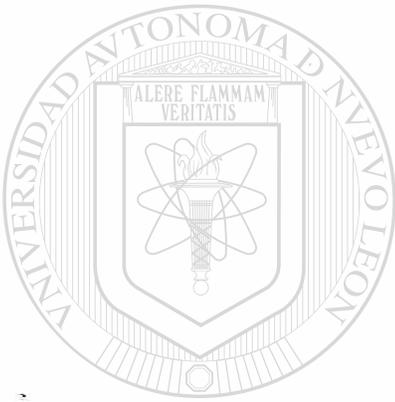
B.- MEB: Vulva con microfilarias (mf).

C.- ML: Sección longitudinal del cuerpo medio mostrando el arreglo de los úteros (ut) didélficos.

D.- MEB: Vista panorámica de la superficie del cuerpo medio.



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



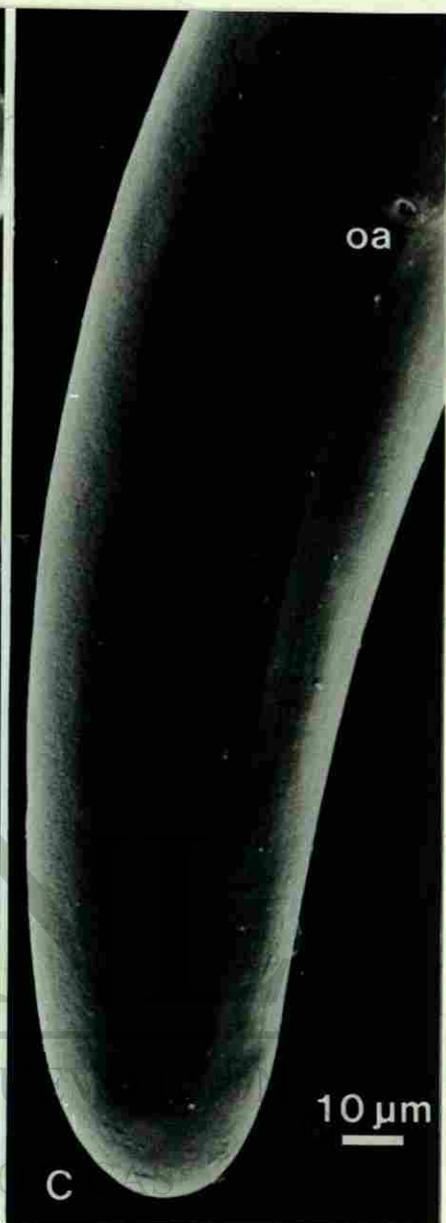
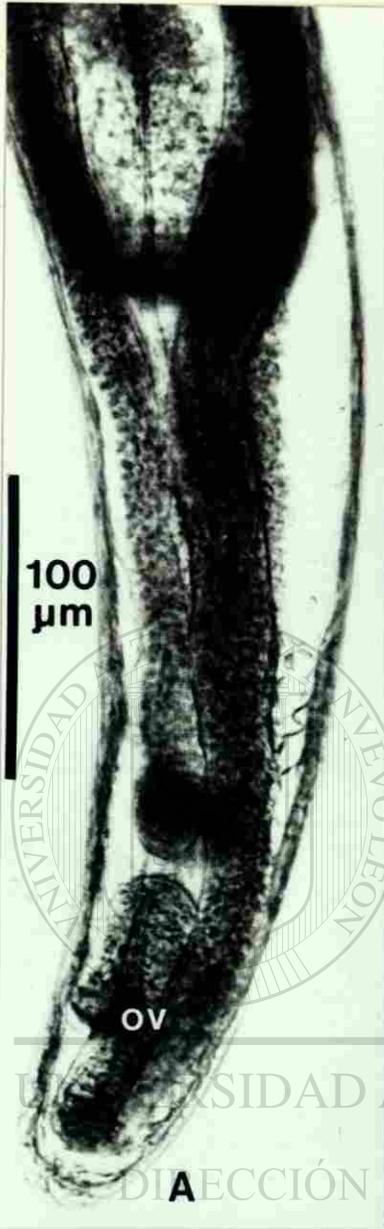
UANL

LAMINA 11.- Microfotografías de la extremidad posterior de los gusanos hembras de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- ML: Extremo posterior de un gusano hembra mostrando la disposición terminal de los dos ovarios (ov).

B-C.- MEB: Panorámica de la extremidad posterior de dos gusanos hembras indicándose la localización del orificio anal (oa) en cada caso.

D.- MEB: Sección frontal del orificio anal.



LAMINA 12.- Microfotografías de las secciones transversales semifinas de las distintas porciones del cuerpo de un gusano hembra y un gusano macho de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- ML: Corte transversal de la porción media del cuerpo de un macho. Testículo (te). Cordón lateral (cdl). Intestino (int).

B.- ML: Corte transversal de la porción anterior del cuerpo de una hembra. Esófago glandular-birradiado (eso).

C.- ML: Corte transversal de la porción anterior (por debajo del esófago) del cuerpo de una hembra. Vagina (vg) conteniendo microfilarias (mf). Cordón lateral (cdl). Intestino anterior (int).

D.- ML: Corte transversal de la porción media del cuerpo de una hembra mostrando la disposición de los dos úteros (ut) y el intestino medio marginado (int).

E.- ML: Corte transversal de la porción posterior del cuerpo de una hembra señalándose la típica musculatura polimiarica coelomiarica (mus) de las filarias. Cordones laterales (cdl). Cordones medios (cdm). Úteros (ut). Intestino posterior (int).

F.- MEB: Sección oblicua de la superficie media del cuerpo de una hembra grávida fracturada.

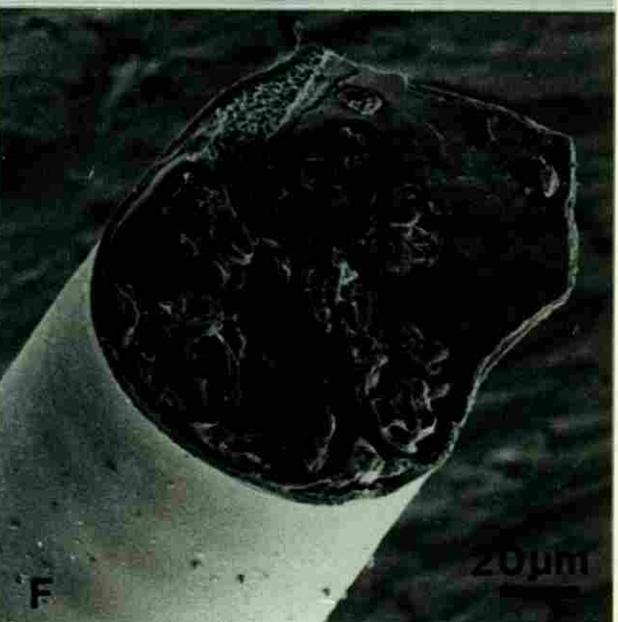
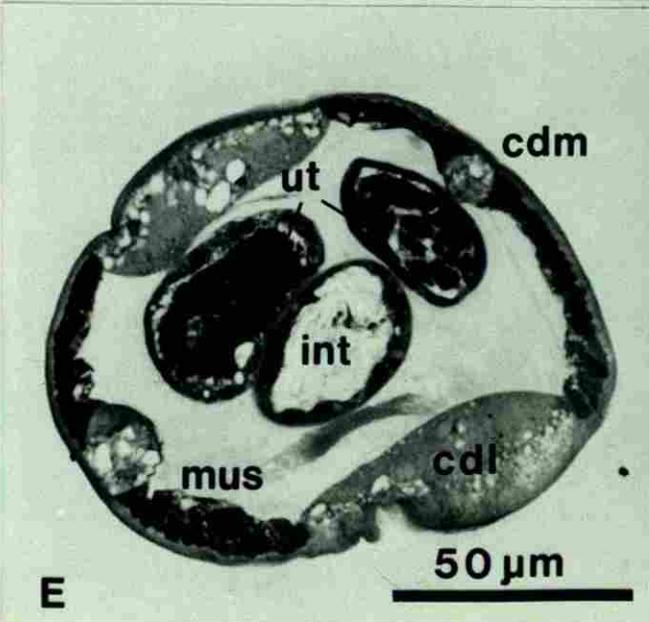
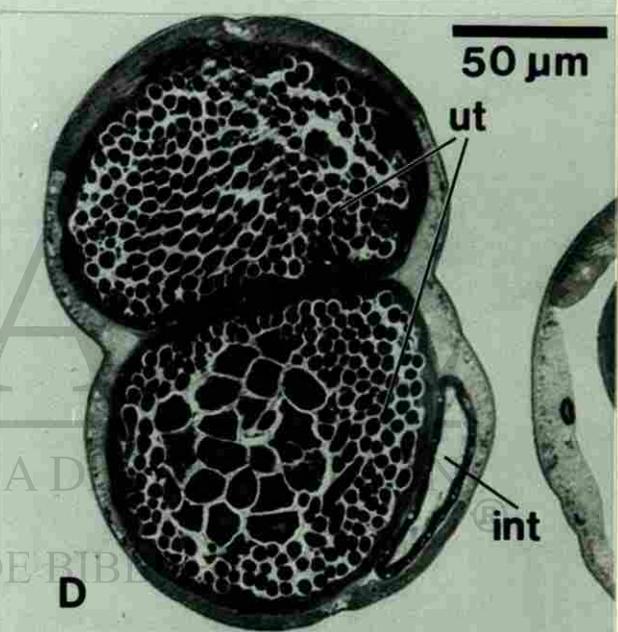
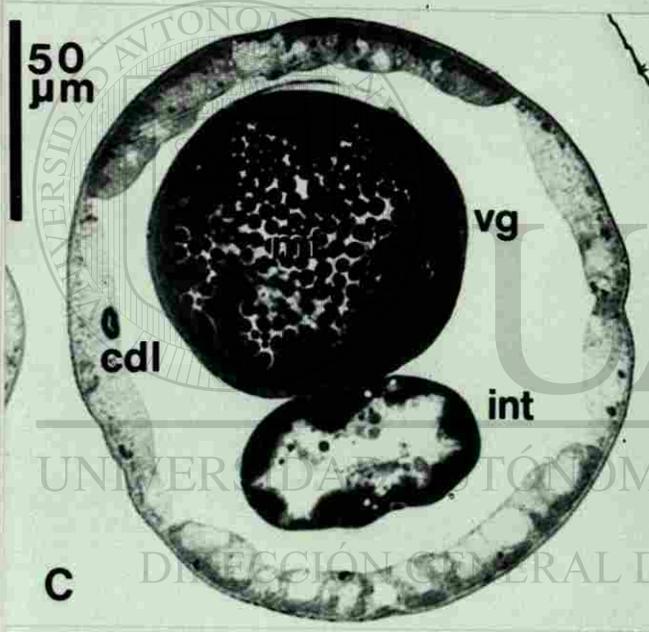
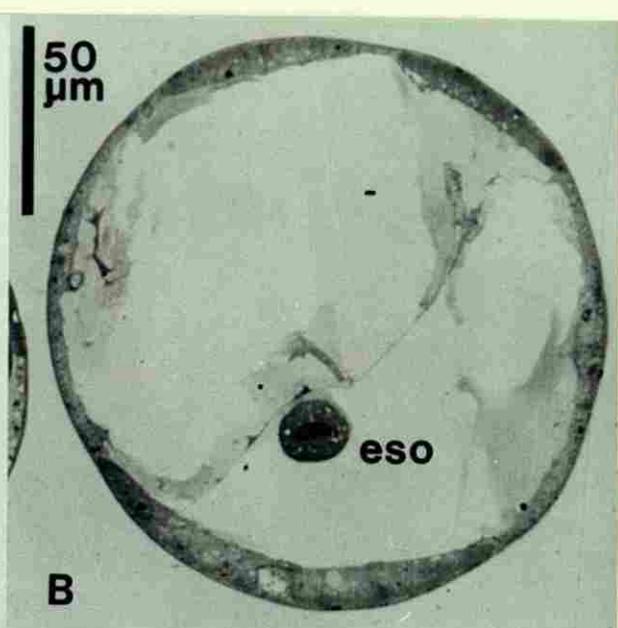
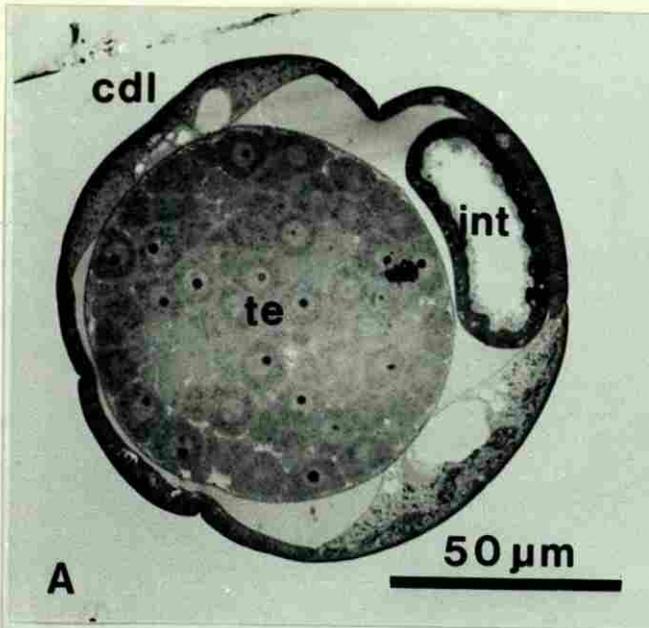


TABLA 2

Comparación morfométrica entre los gusanos hembras de la especie nueva de Dunnifilaria, Dunnifilaria ramachandrani Mullin y Balasingam, 1973, y Dunnifilaria dilli Mak, 1979. Medidas expresadas en micras, sólo la longitud del cuerpo en milímetros (porcentaje promedio en parentesis).

	<u>Dunnifilaria</u> sp.		<u>D. ramachandrani</u>		<u>D. dilli</u>	
	Rango	Prom. (%)	Rango	Prom. (%)	Rango	Prom. (%)
Longitud del:						
cuerpo (mm)	31.8-60	47.5 (100)	18.5-30	25.2 (100)	22-30.4	25.9 (100)
esófago	540-650	597 (1.25)	-	(5)	670-840	737 (2.8)
porción gland.				150 (0.6)	330	330 (1.2)
cola		170 (0.35)		25 (0.09)		10 (0.03)
Distancia de la terminación anterior al:						
anillo nervioso	136-184	153 (0.32)		100 (0.39)	125-160	142 (0.5)
vulva	473-607	546 (1.14)	320-450	410 (1.6)	185-460	328 (1.2)
Diámetro max.	126-194	155 (0.32)	120-200	180 (0.7)	150-160	153 (0.6)
Anchura del cuerpo a nivel de:						
anillo nervioso	78-136	107 (0.22)			80	80 (0.3)
vulva	105-163	130 (0.27)			90-115	101 (0.3)

4.2.1.4.- Microfilarias.

Especímenes adicionales: Microfilarias en formaldehído al 2 por ciento (tenidas en Giemsa/y hematoxilina); longitud total, 93.93/108.8 um, por 3.7/3.3 um como diámetro máximo; espacio cefálico, 0.93/1.39 um de largo; espacio cefálico, 2.8/2.8 um de ancho; distancia del anillo nervioso al extremo anterior, 21.4/23.3 um; del poro excretor, 31.6/34.4 um; del cuerpo interno, 56.7/58.6 um; del poro anal, 79.1/87.4 um; del último núcleo 89.3/103.2 um; espacio caudal, 4.7/5.6 um de largo. Vaina indistinguible en los especímenes con Giemsa/pero en hematoxilina; vaina, 164.6 um de largo, por 5.6 um de ancho.

-Con la misma nota-referente señalada para el holotipo y alo tipo de los gusanos adultos.

Microfilarias (Lamina 13 A-B) (24/25 especímenes tenidos en Giemsa/hematoxilina, respectivamente): Con mediciones promedio (expresadas en micras y porcientos), la longitud total del cuerpo (sin incluir la vaina) asciende a 90/99.7 um (100/100 %), por 3.7/3.8 um (4.1/3.8 %) como diámetro máximo. Un solo espécimen fué me dido bajo el MEB (94 um de largo, por 3.2 um de ancho).

La extremidad anterior de las microfilarias está representada por una estructura cefálica (denominada por el autor; cabeza) redonda que presenta dimensiones más anchas que largas. Bajo la ML, ella se limita al espacio comprendido entre la terminación anterior y los dos núcleos típicos de la columna anterior (situados apenas por debajo de la pared corporal de ese extremo) que presenta esta especie (Lamina 13 D); comunmente denominado "espacio cefálico" (0.9/1.3 um de largo, por 2.9/3.2 um de ancho). Por su parte, bajo el MEB, ella corresponde al mismo tramo corporal hasta antes de las primeras anulaciones cuticulares que comienzan a partir de la prime ra micra de distancia de la terminación anterior (Lamina 13 F). Cada anulación cuticular alcanza un diámetro aproximado de 0.35 um, teniendo el cuerpo completo un número aproximado de 260 a 270.

El inconspicuo anillo nervioso está situado en las primeras 21.6/24 um (24/24 %) del cuerpo (Lamina 13 A-B), donde éste aparece confinado a un ligero espacio dispuesto oblicuamente entre los núcleos columnares. Posteriormente, se localizan en el siguiente orden el poro excretor, 30.8/33.8 um (34/33 %); el cuerpo interno, 53/58.2 um (59/58 %); y el poro anal, 74.4/81.8 um (82/81 %).

El último de los núcleos terminales yace a una distancia de 85.9/96.9 um (95.4/97.2 %) del extremo anterior. En adición a esto, el número y arreglo de los núcleos terminales resulta bastante característico para la especie. Ellos corresponden a un total de cuatro (raras veces cinco) dispuestos uno tras otro (hilera sencilla) sin ocupar la totalidad de la cola (Lamina 13 E), la cual llega a alcanzar una longitud aproximada de 4.7/6.2 um (5.3/6.2 %).

La misma cola, denominada también "espacio caudal", corresponde a las últimas 21 anulaciones cuticulares observadas en las imágenes del MEB (Lamina 13 G). Estas anulaciones resultan claramente denotadas como las más angostas del cuerpo, por lo que la cola adopta una forma bastante aguda que es difícil de visualizar bajo la microscopia convencional (ML).

Finalmente, la vaina (Lamina 13 A-C y F) resulta pobremente tenida con el colorante Giemsa, pero no así con la hematoxilina, donde la longitud de ésta llega a ascender a 148.5 um, por 6.2 um de ancho. También, la vaina es claramente demostrada con el empleo del MEB (Lamina 13 C y F-G), donde precisamente ésta constituye el obstáculo principal (actuando como un cobertor) para identificar aquellas estructuras finas que se presentan en la superficie cuticular de las microfilarias tales como; aperturas anfidiales, oral, de excreción y anal.

NOTA: Para la morfometría de las microfilarias tenidas con Giemsa y hematoxilina ver las Tablas 3a y 3b, respectivamente.

LAMINA 13.- Microfotografías de las microfilarias de la especie nueva de Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, (Filarioidea; Onchocercidae).

A.- ML: Microfilaria de un frótis sanguíneo extendido (fijada en alcohol étílico y tenida con hematoxilina). Anillo nervioso (an). Poro excretor (pe). Cuerpo interno (ci). Poro anal (pa). Núcleos terminales (nt). Vaina (vi).

B.- ML: Microfilaria fijada en formaldehído al 2 por ciento (tenida con hematoxilina). Anillo nervioso (an). Poro excretor (pe). Cuerpo interno (ci). Poro anal (pa). Vaina (vi).

C.- MEB: Sección superficial de la extremidad cefálica de una microfilaria mostrando la fina vaina (vi) fracturada.

D-E.- ML: Extremos anterior y posterior de una microfilaria. Espacio cefálico (ecf). Espacio caudal (ecd).

F-G.- MEB: Extremos anterior y posterior de una microfilaria mostrando las anulaciones cuticulares, el espacio cefálico (ecf) y el espacio caudal (ecd).

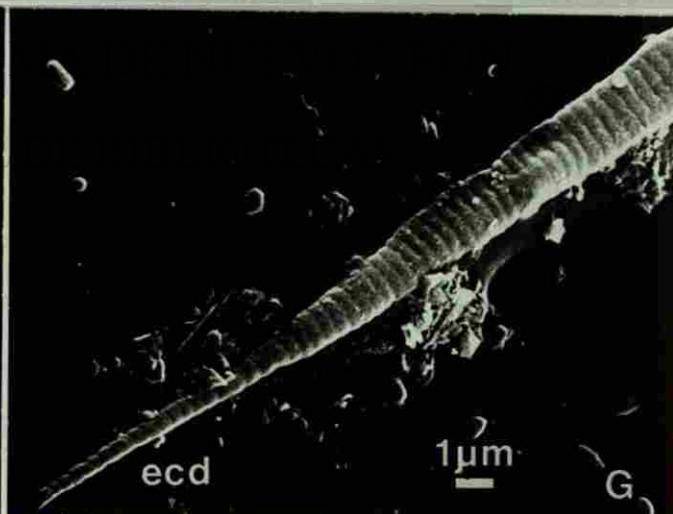
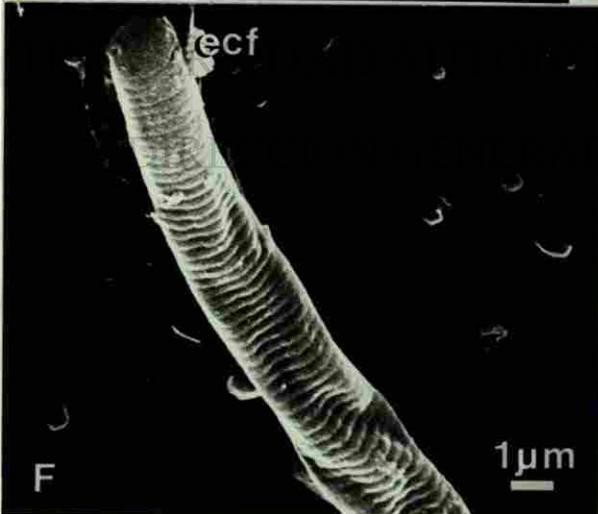
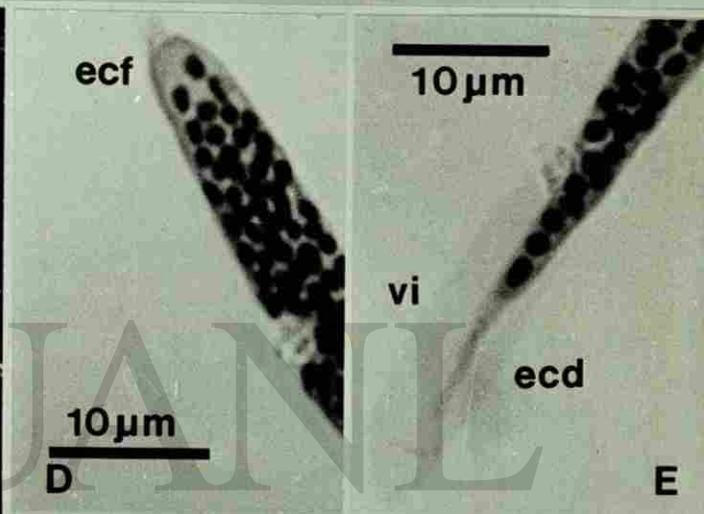
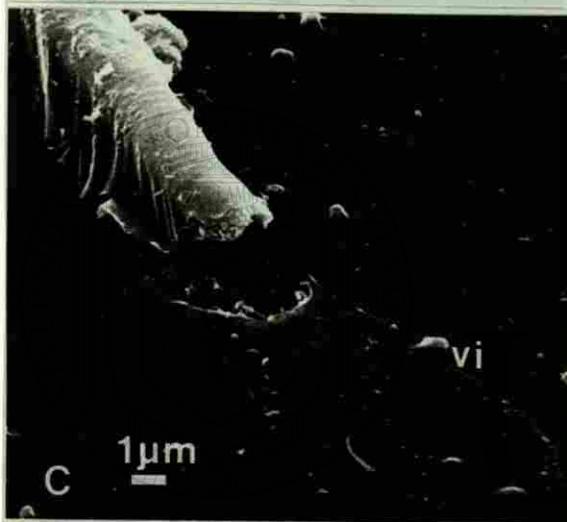
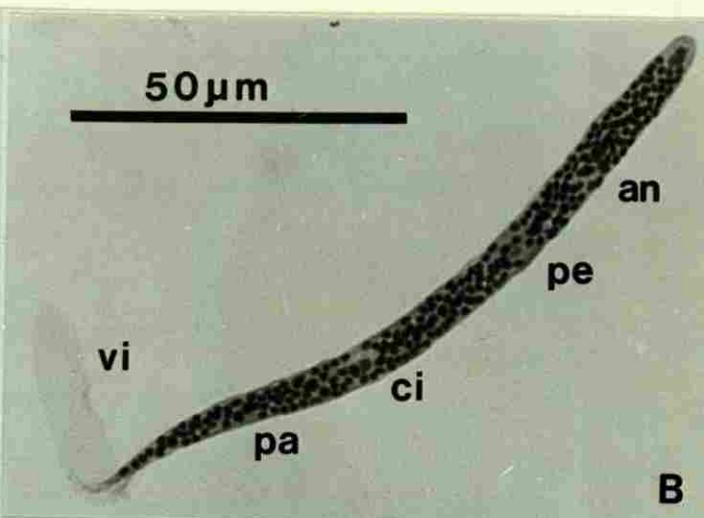
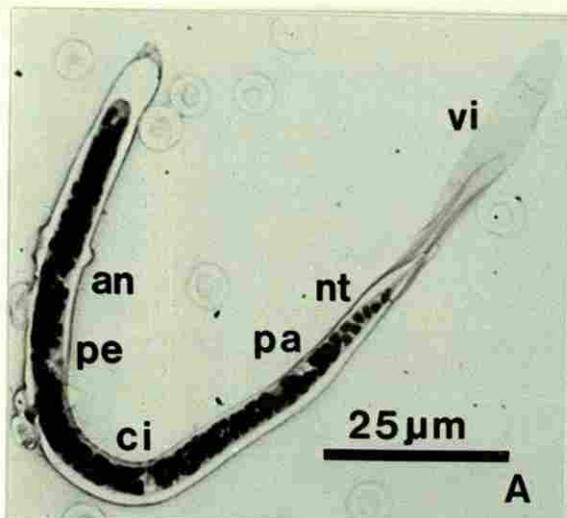


TABLA 3a

Comparación morfométrica entre las microfilarias de la especie nueva de Dunnifilaria, Dunnifilaria ramachandrani Mullin y Balasingam, 1973, y Dunnifilaria dilli Mak, 1979. Medidas expresadas en micras (porcentaje promedio en parentesis).

MICROFILARIAS TENIDAS EN GIEMSA

	<u>Dunnifilaria</u> sp.			<u>D. ramachandrani</u>			<u>D. dilli</u>		
	Rango	Prom.	(%)	Rango	Prom.	(%)	Rango	Prom.	(%)
Longitud total	73.4-109	90	(100)	122-144	133	(100)	70-93	80.5	(100)
Distancia de la terminación anterior al:									
1er. núcleo	0.9	0.9	(1.0)		2.2	(1.6)	1-2	1.6	(1.9)
anillo nervioso	17.6-27	21.6	(24)	34-48	42	(32)	15-32	22.3	(28)
poro excretor	26-37.2	30.8	(34)				26-30	28.7	(36)
cuerpo interno	46.5-65	53	(59)						
poro anal	63.2-89	74.4	(82)	107-122	114	(86)	58-72	65	(81)
Anchura a nivel de:									
1er. núcleo	2.3-3.7	2.9	(3.2)		6.5	(4.9)	2-3.5	2.6	(3.2)
anillo nervioso	2.7-3.7	3.5	(3.8)				3-4	3.4	(4.2)
poro excretor	3.2-4.6	3.7	(4.1)				3-3.5	3.2	(3.9)
poro anal	1.8-3.7	2.5	(2.8)				2-3	2.5	(3.1)
Vaina	pobremente tenida			pobremente tenida			sin vaina		
Nr. especímenes	24			10			20		

TABLA 3b

Comparación morfométrica entre las microfilarias de la especie nueva de Dunnifilaria, Dunnifilaria ramachandrani Mullin y Balasingam, 1973, y Dunnifilaria dilli Mak, 1979. Medidas expresadas en micras (porcentaje promedio en parentesis).

MICROFILARIAS TENIDAS EN HEMATOXILINA

	<u>Dunnifilaria</u> sp.			<u>D. ramachandrani</u>			<u>D. dilli</u>		
	Rango	Prom.	(%)	Rango	Prom.	(%)	Rango	Prom.	(%)
Longitud total	85.5-112	99.7	(100)	122-136	123	(100)	70-102	87.0	(100)
Distancia de la terminación anterior al:									
1er. núcleo	0.9-1.8	1.3	(1.3)		2.0	(1.6)	1-2	1.6	(1.8)
anillo nervioso	20.4-26	24	(24)	32-43	38	(31)	17-25	20.3	(23)
poro excretor	28-36.2	33.8	(33)	68-77	74	(60)	23-38	30.0	(34)
cuerpo interno	53-67.8	58.2	(58)						
poro anal	69.7-91	81.8	(81)				62-80	72.0	(82)
Anchura a nivel de:									
1er. núcleo	2.7-3.7	3.2	(3.2)		4	(3.2)	2-3	2.6	(2.9)
anillo nervioso	3.2-4.6	3.8	(3.8)				2.5-4	3.2	(3.6)
poro excretor	2.7-4.6	3.7	(3.7)				2-3.5	2.9	(3.3)
poro anal	2.3-4.1	2.8	(2.8)				2	2	(2.2)
Vaina		bién	tenida		bién	tenida		sin	vaina
Nr. especímenes		25			10			20	

4.3.- Investigación taxonómica de la especie nueva de Dunnifilaria.

4.3.1.- Diagnósis taxonómica.

Clase: NEMATODA
Orden: SPIRURIDA
Superfamilia: FILARTIOIDEA
Familia: ONCHOCERCIDAE
Subfamilia: SPLENDIDOFILARINAE
Género: Dunnifilaria

Los gusanos estudiados son incluidos dentro de la familia Onchocercidae Leiper, 1911, porque en sus hembras la vulva guarda una posición marcadamente anterior al cuerpo y por detrás del anillo nervioso; subfamilia Splendidofilariinae Chabaud y Choquet, 1953, porque en sus machos las espículas son cortas y de tamaño y forma semejantes, porque carecen de una cavidad bucal o bestíbulo, y porque presentan un número reducido de papilas sésiles caudales; género Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, porque sus espículas son cortas, robustas y similares en tamaño y forma, porque sus hembras son didélficas, porque el esófago en ambos sexos es moderadamente largo e indistintamente dividido, porque los machos presentan cuatro pares de papilas sésiles caudales e inconspicuas, porque sus microfilarias son cortas y envainadas, y porque son parásitos de roedores (Anderson y Bain, 1976).

Por otra parte, la literatura senala sólo dos especies conocidas para el género Dunnifilaria; D. ramachandrani (Mullin y Balasingam, 1973) y D. dilli (Mak, 1979). Ambas especies resultan claramente distintas de los gusanos aquí descritos en base al tamaño de éstos, longitud del esófago, posición de la vulva, longitud de la cola en las hembras, tamaño de las espículas, número y arreglo de las papilas caudales, y tamaño (forma) de las microfilarias (ver Tablas 1-3b).

En adición a esto, la especie nueva de Dunnifilaria se caracteriza por representar a los gusanos de mayor tamaño (dos veces más largos que las otras dos especies conocidas) con un esófago más cor

to e indistintamente dividido, vulva localizada en la región post-esofágica y no en la región medioesofágica como ocurre en las otras dos especies, cola en las hembras mucho más larga, y machos con las espículas más cortas dentro del género Dunnifilaria.

En cuanto a la comparación individual entre las especies de éste género, la especie nueva de Dunnifilaria es considerablemente más angosta que D. ramachandrani. En adición a esto, D. ramachandrani difiere de las otras especies por carecer de las finas estriaciones transversales que se presentan a lo largo de todo el cuerpo de la especie nueva y sólo en ambas extremidades en D. dilli, por presentar el anillo nervioso más anteriormente, y porque sus microfilarias son las más largas y anchas del grupo de las Dunnifilarias.

Por su parte, D. dilli se caracteriza porque sus machos presentan una cola más corta y porque sus espículas resultan ser las más largas. Además, las microfilarias de ésta última especie rinden con la longitud corporal más corta y carecen particularmente de la vaina.

Por último, una de las distinciones morfológicas más notorias para la diferenciación entre las especies de Dunnifilaria (incluso en la especie nueva) se encuentra en base al número y arreglo de las papilas caudales presentes en los gusanos machos. más concretamente, las dos especies sudasiáticas; D. ramachandrani y D. dilli, se caracterizan por mostrar únicamente 4 y 2 pares de papilas caudales, respectivamente, las cuales yacen por completo por detrás de la cloaca en la zona comprendida para la región postanal. En contraste, la especie nueva de Dunnifilaria es distinguida claramente de las otras en razón de sus dos pares de papilas perianales y los dos restantes pares de la región postanal.

4.3.2.- Datos para el catalogado de los tipos.

Holotipo (macho) alotipo (hembra): Depositados en la WHO Collaborating Centre Reference Collection, CAB International Institute of Parasitology, St. Albans, UK (Reino Unido de la Gran Bretana), con el Nr. de Colección (frascos) B572.

Paratipos (machos y hembras): Depositados como siguen; 2 machos y 2 hembras, WHO CCRC Nr. Coll. B573, en la WHO CCRC CAB IIP, St. Albans, Inglaterra; 1 macho y 1 hembra, en el Laboratoire des Vers, Museum National d'Histoire Naturelle, Paris, Francia; 1 macho y 1 hembra en la Natural Parasite Collection, Beltsville, Maryland, Estados Unidos de Norteamérica; 1 macho y 1 hembra, en el Instituto de Biología, Laboratorio de Helminología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Especímenes adicionales: 2 preparados sanguíneos (laminillas) con microfilarias tenidas en Giemsa y hematoxilina; depositados con el Nr. H429 en la WHO CCRC CAB IIP, St. Albans, Inglaterra.

Hospedero tipo: Neotoma micropus Baird, (rata de campo americana), comunmente conocida en la región con el nombre de rata gris de panza blanca.

Localización: Gusanos adultos en los espacios subaracnoideos del cerebelo y médula oblonga (SNC). Microfilarias circulando en la sangre periférica.

Localidades: Rancho Las Animas y Rancho Las Flores, en el Municipio de Dr. Coss, Estado de Nuevo León, México.

NOTA: Este catálogo taxonómico ha sido presentado por el autor (Gutiérrez, en impresión) en su publicación que aparecerá en la revista científica; *Tropical Medicine and Parasitology* (1987).

5.- D I S C U S I O N E S

Morfológicamente, la especie filarioidea tratada en este trabajo es descrita como:

- (1) la tercera especie mundial del género Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973.
- (2) La primera especie filarioidea descrita para Neotoma micropus Baird
- (3) el primer registro genérico (Dunnifilaria sp.) para el Continente americano.

5.1.- Histología e histopatología de la infección.

5.1.1.- Histología y distinción entre Dunnifilaria sp. y otras especies filarias-afines que parasitan en el SNC.

En adición a lo anterior, este es el tercer miembro de la subfamilia Splendidofilarinae Chabaud y Choquet, 1953, después de Meningonema peruzzii y Chandlerella quisicali, para ser descrito del sistema nervioso central.

El primer miembro mencionado (M. peruzzii), que morfológica y sistemáticamente resulta cercanamente parecido a la especie nueva de Dunnifilaria (según la clasificación más reciente de las filarias; Anderson y Bain, 1976), también ha sido descrito (Orihel y Esslinger, 1973) de los espacios subaracnoideos en la base del cerebro a nivel de la médula oblonga de algunos primates, Cercopithecus (Miopithecus) talapoin, en el Africa Central; región geográfica en la que se ha reportado más de un caso humano de filariasis cerebral ("..en un soldado británico estacionado en el Valle del Zambesi y en un empleado africano del Departamento de Control Tsetse de Kari- ba, en la misma rivera del Zambesi, en Rodesia..") atribuido en un principio a la presencia de Dipetalonema (Acanthocheilonema) perstans (Dukes et al, 1968), y después reconocido como un caso de filariasis cerebral "una infección zoonótica?" (Orihel, 1973) causada por M. peruzzii.

Entre tanto, el segundo miembro (C. quisicali), que resulta clínicamente menos importante pero igualmente emparentado con la morfología de la especie nueva de Dunnifilaria, ha sido redescrito por Robinson (1971) de la fisura sagital que separa los hemisferios cerebrales del tordo bronceado, Quiscalus quiscula versicolor, en los Estados de Iowa, Indiana y Ohio (reportados por von Linstow, 1904; Odetoynbo y Ulmer, 1959; Welker, 1962), Estados Unidos de Norteamérica.

Por otro lado, aunque se señala que ambos miembros son cercanamente parecidos a la especie nueva de Dunnifilaria, ésta última se distingue de cada uno en base a los siguientes caracteres; de M. peruzzii, por no tener en sus hembras los úteros conformados cuadrilámicamente, por el tamaño mucho menor en los gusanos adultos y microfilarias, y por carecer de las numerosas papilas preanales (hasta 7 pares). De C. quisicali, por el tamaño mucho menor de las microfilarias, por no presentar un esófago tan largo, amplio y bien desarrollado, por el número y arreglo de las papilas caudales, y porque ésta última resulta ser una especie parásita de aves.

En adición a esto, histológicamente, C. quisicali difiere incluso de M. peruzzii por localizarse en los hemisferios cerebrales del hospedero, en donde además de ocupar los espacios próximos a la piamadre, invaden particularmente los tejidos cerebrales adyacentes provocando en ambos casos daños mecánicos por compresión pero carentes de una reacción inflamatoria y/o respuesta-mediada celular (Harry et al, 1984).

5.1.2.- Histopatología.

Por la estrecha semejanza que guarda la infección causada con M. peruzzii en el hospedero específico (Cercopithecus) y en los casos humanos reportados en la literatura, hace pensar que las afecciones observadas en éstos tales como; desordenes neurológicos severos mejor descritos como una encefalomiелitis aguda (Dukes et al, 1968; Orihel, 1973) y/o hasta la probable muerte del mismo hospedero defi-

nitivo en caso de una infestación masiva (Peruzzi, 1928; Orihel y Esslinger, 1973), no estarían lejos de esperarse en la relación huesped (Neotoma)-especie nueva de Dunnifilaria, pues las tres Neotomas examinadas aparecieron sólo ligeramente infectadas con unos pocos gusanos que aún se mantenían vivos dentro de los espacios meningiales.

5.2.- Morfología de la especie nueva de Dunnifilaria.

Las determinaciones morfológicas presentadas en este trabajo demuestran la gran utilidad del MEB y MET en la investigación de la superficie y estructura fina de la especie parásita estudiada. Con ellos pueden ser reconocidos algunos caracteres o rasgos distintivos difíciles de visualizar mediante la microscopia compuesta de luz (señalado ya por otros autores; Kim y Ledbetter, 1980), la cual, desafortunadamente, ha sido frecuentemente utilizada como el único medio descriptivo en la mayoría de las especies reportadas, siendo particularmente éste el caso para las dos especies conocidas del género Dunnifilaria; D. ramachandrani (Mullin y Balasingam, 1973) y D. dilli (Mak, 1979). En razón y a consecuencia de esto, la interpretación de los resultados (sobre la morfología de la superficie y estructura fina de la especie parásita presentada) es particularmente discutida en base a las observaciones obtenidas y reportadas en otros grupos parásitos filarioideos.

Por otra parte, no incluyendo las fallas descriptivas encontradas en el trabajo inicial (Gutiérrez, 1983), el mismo autor hace ahora el reconocimiento, de que los datos determinados en esta investigación podran ser representados como la contribución morfológica más precisa para la descripción de la especie nueva de Dunnifilaria.

5.2.1.- Gusanos adultos.

La longitud corporal de las filarias adultas estudiadas yace notoriamente por encima (cáasi el doble) del rango establecido para las otras dos especies conocidas del género Dunnifilaria.

Las papilas cefálicas son del tipo submedianas e inconspicuas, de aspecto semejante (álgo menores y menos proyectadas) a las reportadas para Brugia malayi y B. pahangi (Aoki et al, 1980; Franz et al, 1982; Lenze, 1982). No obstante, a diferencia de Brugia y otros grupos de filarias, por ejemplo; Dirofilaria, Loa y Onchocerca (Wong, 1978; Franz, 1979, 1980, 1982; Aoki et al, 1980; Lenze, 1982), la especie nueva de Dunnifilaria presenta los dos pares de papilas bucales arreglados en un anillo interno que se dispone casi a la periferia inmediata de la apertura bucal.

Por otra parte, las mismas papilas cefálicas fueron denotadas por Mak (1979), para D. dilli, como cuatro pares de papilas diminutas-submedianas. Sin embargo, al igual que Mullin y Balasingam (1973), quienes describieron el mismo número de papilas para la primera especie de Dunnifilaria; D. ramachandrani, no reportaron la concreta disposición y diferenciación de éstas en el extremo cefálico de sus especímenes. Probablemente, la disposición de estas papilas debe presentarse en forma parecida a las descritas en el nuevo miembro de Dunnifilaria.

En otro aspecto, la superficie cuticular de los gusanos adultos estudiados refleja característicamente la formación de finas anulaciones transversales que resultan un rasgo particular en esta especie. El arreglo sencillo de estas anulaciones aparece invariable a lo largo de todo el cuerpo de los gusanos de ambos sexos, cuando en otros grupos de filarias (arriba denotadas) existe una marcada diferencia entre machos y hembras y aún entre las distintas porciones del cuerpo en el mismo gusano. Cabe señalar que las especies más cercanas en apariencia cuticular vuelven a ser representadas por los miembros del género Brugia. Sin embargo, en la especie nueva de Dunnifilaria no aparecen los finos tubérculos cuticulares, las bifurcaciones anulares ni las áreas rugosas reportadas para Brugia malayi y B. pahangi (Aoki et al, 1980; Franz et al, 1982; Lenze, 1982). También, la ausencia de estructuras cuticulares tales como; verrugas, anulaciones intercostales, formaciones alveolares, cordilleras longitudinales y las mismas dimensiones anulares, dan a los miembros estudiados un carácter particular de distinción entre las otras filarias mencionadas.

Por otra parte, la cutícula típica de los nemátodos ha sido descrita para consistir a su vez de tres capas, las cuales pueden diferir en grado de conformación y subdividirse en las distintas especies (Lee, 1966; Deas, 1974; Franz, 1979, 1980). De hecho, las tres capas cuticulares han sido denominadas como; capa externa o cortical, capa media o "matrix" y capa interna o basal. En este trabajo, la denominación de las capas encontradas es dejada abierta en criterio y señaladas sólo con números (1, 2 y 3). También, las secciones correspondientes a la membrana superficial (electrónicamente más densa) de la capa 1, así como la línea basal o divisora de las capas 1 y 2 y los elementos que aparecen como estructuras vesiculares en la capa 3, quedan comprendidos como meros espacios y elementos integrados a cada una de las capas correspondientes.

En comparación con otras filarias, se ha denotado que tanto las especies de Brugia como Loa loa presentan en común una cutícula dividida hasta con 10 subcapas (Vincent et al, 1975, 1975; Melles, 1983), mientras que en Onchocerca volvulus, donde la conformación de la cutícula difiere entre machos y hembras (Franz, 1980), ésta llega a estar constituida por las tres capas mencionadas, las cuales se subdividen a la vez en 5 claramente definidas (dos de las cuales presentan fibras de colágena).

En adición a lo anterior, un carácter más para la diferenciación entre estas especies de filarias está dado por el grosor que alcanza la cutícula, la cual, en la especie estudiada corresponde a la más delgada (aproximadamente 1 μ m), siguiéndole en grosor las conferidas a las especies de Brugia (2.5 μ m), L. loa (5-10 μ m) y O. volvulus (10-20 μ m).

Finalmente, otra gran similitud es observada de nuevo cuando se compara la longitud del extremo caudal de los gusanos de ambos sexos de Dunnifilaria sp. y aquella de las especies de Brugia. También, la forma y tamaño de las papilas caudales, así como la gran papila central, son bastante semejantes entre ambas especies. Sin embargo, la diferencia principal en esta sección del cuerpo es encontrada en base a la forma y tamaño de las espículas copulatorias, las cuales resultan un carácter específico de orden taxonómico a nivel de subfamilia (Anderson y Bain, 1976).

5.2.2.- Microfilarias.

Como ha ocurrido en otras descripciones, el mejor estudio de las microfilarias ha sido realizado en base a las mediciones-morfo métricas sobre la ubicación de las estructuras significantes determinadas con la ayuda del microscopio de luz y mediante diversos procesos de tinción del material empleado. Por otra parte, la investigación con el MEB ha rendido con el auxilio particular sobre la información de algunos detalles finos de la estructura superficial de las microfilarias, los cuales yacen en el límite de resolución del mismo microscopio de luz (Martínez-Palomo y Martínez-Báez, 1977).

Particularmente, así como se ha denotado en las microfilarias de Wuchereria bancrofti (Franz y Zielke, 1980), también en las observaciones de este estudio se presentó la dificultad de definir los detalles electrónicos de la estructura superficial en razón de la notoria presencia de la vaina protectora que recubre las microfilarias de la especie nueva de Dunnifilaria. No obstante, la información obtenida por este medio queda señalada en su descripción en base a la demostración del número, dimensión y disposición de sus anulaciones cuticulares, así como de los detalles cefálicos y caudales observados en los mismos.

5.3.- Diagnósis taxonómica de la especie nueva de Dunnifilaria.[®]

Los caracteres distintivos para la denominación del parásito como especie nueva quedan establecidos en base a las diferencias morfológicas y morfométricas (Tablas 1-3b) encontradas entre los dos miembros conocidos del género Dunnifilaria y la especie estudiada. Particularmente, como lo denotaron otros autores (Orihel, 1964, 1966; Eberhard, 1984), la posición de la vulva en relación a el esófago sirve como un caracter usual en la diferenciación de las especies. Esto se ha encontrado en casi todos los grupos filarioides, no resultando una excepción en las especies de Dunnifilaria, donde las dos especies sudasiáticas son caracterizadas por tener la vulva en la región mediesofágica, mientras que en la especie nueva ésta resulta postesofágica.

Por otra parte, en cuanto a la diferenciación de las especies de Dunnifilaria en base a las finas estriaciones transversales reportadas a lo largo de todo el cuerpo en ambos sexos de la especie nueva de Dunnifilaria y sólo para ambas extremidades del cuerpo en ambos sexos de D. dilli, se establece en este trabajo que este carácter no puede ser tomado como un verdadero rasgo distintivo, pues los medios descriptivos utilizados en las distintas especies varían enormemente. El autor sugiere que un estudio más homogéneo de la superficie cuticular (mediante el MEB y MET) de las tres especies rendiría seguramente con el verdadero rasgo estructural, ya que con la microscopía de luz es escasamente probable llegar a denotar las finas estriaciones, o bien, el correcto arreglo y dimensiones de éstas tal y como ha sido observado entre otras especies de filarias (Wong y Brummer, 1978).

Finalmente, como lo sugerido por Orihel (1965); en la distinción de otras filarias, la diferencia entre las tres especies de Dunnifilaria (incluyendo a la especie nueva) por el hospedero definitivo, la localización tisular en estos y sus respectivas distribuciones geográficas soportan el hecho de distinguirlas como especies individuales.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

6.- RESUMEN

En este trabajo es presentada una investigación morfológica y taxonómica sobre los gusanos filarioideos que parasitan los órganos centrales del sistema nervioso de las ratas de campo americanas, Neotoma micropus, capturadas en el Municipio de Dr. Coss, Estado de Nuevo León, México. Este estudio está basado en la examinación histológica de tres de 100 roedores nativamente infectados y en la descripción morfológica de 34 gusanos machos, 27 gusanos hembras y de algunas microfilarias mediante la microscopia de luz, electrónica de barrido y electrónica de transmisión.

Los gusanos adultos fueron característicamente localizados entre la aracnoides y piamadre -espacio subaracnoidal- en las inmediaciones del cerebro de los tres roedores histologicamente investigados. Afectados fueron el cerebelo (en los espacios subaracnoideos de la periferia y de las comisuras cerebelares primarias) y la médula oblonga. En ninguno de los casos hubo una invasión tisular o un daño mecánico causado por los gusanos adultos. Tampoco fueron observadas reacciones de inflamación o infiltrados celulares de la respuesta-mediada del hospedero en los tejidos adyacentes a los gusanos, los cuales se mantenían vivos hasta el momento de su fijación.

Morfológicamente, el extremo anterior de los gusanos adultos de ambos sexos está conformado por una ligera proyección cefálica, a manera de cabeza, en la que yacen ordenadamente cuatro pares de papilas submedianas las cuales están arregladas en un anillo interno (más estrecho) de dos pares de papilas bucales y un anillo externo de dos pares de papilas cervicales.

Las dos aperturas anfidiales están situadas a los lados de la apertura oral (central) la cual aparece rodeada por un grueso anillo cuticular que se extiende a lo largo de la pared lumen esofágica.

El esófago es moderadamente largo e indistintamente dividido. El contiene un lumen esofágico birradiado en la porción anterior de la región glandular, mientras que el lumen en la porción posterior es trirradiado.

En ambos sexos, la superficie cuticular de los gusanos adultos muestra finas estriaciones transversales (reconocidas sólo con el MEB y MET) que se extienden invariablemente a lo largo de todo el cuerpo. La cutícula, que representa la porción más delgada de la pared corporal, está formada por tres capas distintas. La capa más interna se une a un sincicio hipodérmico que termina directamente sobre la lamina basal de la región contráctil de las células musculares coelomias.

En el extremo posterior de los gusanos machos son observados una cloaca semicircular, así como cuatro pares de papilas sésiles caudales (semicirculares) las cuales se hayan arregladas en dos pares de papilas perianales y dos pares de papilas postanales. Una gran papila central es localizada por encima de la cloaca.

Las espículas cortas, cercanamente iguales en tamaño y forma, son descritas al groso modo como un par de hojas enrrolladas que terminan apicalmente en un botón pequeño.

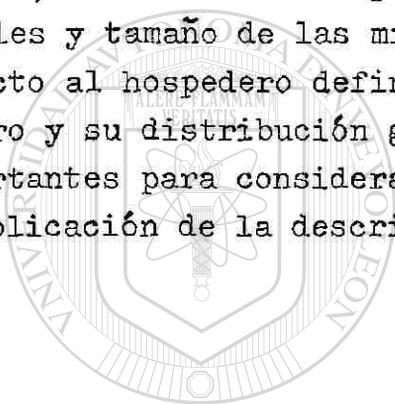
Los gusanos hembras son caracterizados por un tracto genital didélfico-opistodélfico. La vulva semicircular es localizada por detrás de la terminación posterior de el esófago, mientras que las dos ramas uterinas se encuentran longitudinalmente enrrolladas casi a lo largo de todo el cuerpo. El inconspicuo ano de los gusanos hembras es denotado como un orificio semicircular situado subterminalmente en la porción ventrolateral derecha (observado sólo con el MEB).

Las microfilarias cortas y envainadas fueron demostradas a cualquier hora del día en la sangre periférica y cardiaca de los hospederos. El extremo anterior de las microfilarias está representado por un espacio cefálico muy corto, el cual está limitado por dos núcleos. Este limite corresponde superficialmente con la primera anulación cuticular. El extremo posterior es caracterizado por un espacio caudal largo y afilado, el cual es precedido por una hilera de cuatro a cinco núcleos terminales.

La superficie cuticular de las microfilarias muestra las finas estriaciones transversales las cuales recorren la totalidad del cuerpo con la excepción del espacio cefálico.

Las filarias investigadas en este estudio son incluidas en la familia Onchocercidae Leiper, 1911, y en la subfamilia Splendidofilarinae Chabaud y Choquet, 1953. Esta es la primera descripción de la tercera especie del género Dunnifilaria Mullin y Balasingam, 1973, y al mismo tiempo la primera especie de Dunnifilaria en el Continente americano.

Esta filaria es distinguida de las otras dos especies conocidas del género Dunnifilaria (D. ramachandrani y D. dilli) en base a los siguientes criterios: Tamaño de los gusanos adultos, longitud del esófago, posición de la vulva, longitud de la cola en las hembras, tamaño de las espículas, número y arreglo de las papilas caudales y tamaño de las microfilarias. También, las diferencias respecto al hospedero definitivo, la localización tisular en el hospedero y su distribución geográfica fueron estimados como rasgos importantes para considerar a este gusano como una especie nueva. La publicación de la descripción de la especie nueva está en impresión.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Morphologie und Taxonomie einer neuen Dunnifilaria-Spezies (Filarioidea; Onchocercidae) im Zentralnervensystem der amerikanischen Feldratte, Neotoma micropus, die im Nordosten des Staates Nuevo Leon in Mexiko entdeckt wurde.

6 (a).- Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wird eine morphologische und taxonomische Studie einer Filarie beschrieben, die im Zentralnervensystem amerikanischer Feldratten (Neotoma micropus) vorkommt, die in der Gemeinde Dr. Coss, im Staat Nuevo Leon, gefangen wurden. Die Ergebnisse beruhen auf histologischen Studien an drei von 100 natürlich infizierten Nagern und der Untersuchung von 34 Männchen, 27 Weibchen und einer Anzahl von Mikrofilarien, mit Licht-, Raster- und Transmissions-Elektronenmikroskopie.

Die erwachsenen Würmer lagen bei den drei histologisch untersuchten Nagern zwischen der Arachnoidea und Pia mater im Subarachnoidalraum außerhalb des Gehirns. Befallen waren die Subarachnoidalräume um das Kleinhirn im Bereich der Hemisphären und der primären Kommissur und um die Medulla oblongata. In keinem Fall wurde eine Invasion oder eine durch die Würmer verursachte Läsion im Gehirn beobachtet. Es waren auch keine entzündlichen Reaktionen oder zellulären Infiltrate als Reaktion des Wirtes in der Umgebung der Würmer festzustellen, die zum Zeitpunkt der Fixierung wohl lebendig waren.

Das Vorderende des erwachsenen Wurmes ist bei beiden Geschlechtern etwas verdickt. Es wird von vier Paar Papillen umgeben, die in einem inneren Ring aus zwei Paar Buccalpapillen und einem äußeren Ring aus zwei Paar Zervikalpapillen angeordnet sind.

Die beiden Amphidenöffnungen liegen seitlich von der zentralen Mundöffnung, die von einem dicken Kutikulawall umgeben erscheint, der sich über die gesamte Länge der Ösophaguswand erstreckt.

Der Ösophagus ist mäßig lang, nicht deutlich unterteilt, und weist im vorderen Teil der glandulären Region ein zweizipfliges und im hinteren Teil ein dreizipfliges Lumen auf.

Die Kutikula beider Geschlechter bildet eine feine Querringelung, die nur im REM und TEM zu erkennen ist und die sich über die ganze Länge des Körpers erstreckt, wobei sich keine morphologischen Unterschiede erkennen lassen. Die Kutikula stellt den dünnsten Anteil der Körperwand dar. Sie ist aus drei unterschiedlichen Schichten aufgebaut. An die innenste Schicht schließt sich ein hypodermales Syncytium an, das unmittelbar an der Basallamina des kontraktiven Teiles der coelomyaren Muskelzellen endet.

Am Hinterende des Männchens befinden sich die halbkreisförmige Kloake, sowie vier Paar flache halbkreisförmige Papillen, von denen zwei perianal und zwei postanal angeordnet sind. Vor der Kloake ist eine weitere, größere Zentralpapille vorhanden.

Die kurzen Spicula, die annähernd gleich in Form und Größe sind, lassen sich als eingerollte Platten beschreiben, die apikal in einem kleinen Knopf enden und ein zentrales Lumen zeigen.

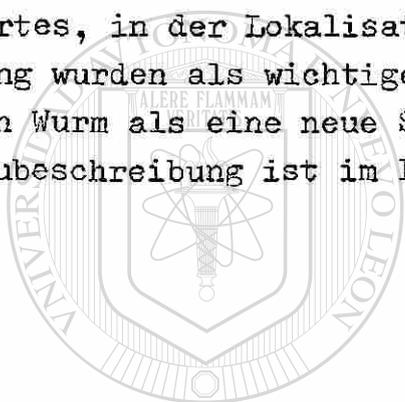
Das weibliche Genitale ist als didelphisch-opisthodelphisch zu charakterisieren. Die Weibchen besitzen eine halbkreisförmige Vulvaöffnung, die ventral und postösophageal lokalisiert ist. Die beiden verdrillten Uteri verlaufen längs des Körpers, den sie hinten fast völlig ausfüllen.

Lichtmikroskopisch läßt sich am Hinterende der Anus nur schwer erkennen. Erst mit dem REM wird deutlich, daß er als eine halbkreisförmige Öffnung rechtseitig, ventral, kurz vor dem Ende zu finden ist.

Die kurzen, gescheideten Mikrofilarien konnten zu jeder Tageszeit im peripheren und im Herzblut der Nagern nachgewiesen werden. Das Vorderende der Mikrofilarien wird von einem sehr kurzen Kopfraum eingenommen, der von zwei Kernen begrenzt wird. Dieser Begrenzung entspricht an der Oberfläche die erste Ringelung. Das sich zuspitzende Hinterende enthält eine Reihe von vier bis fünf Kernen und terminal einen kernfreien Raum. Die Oberfläche der Kutikula der Mikrofilarien zeigt eine feine Querringelung, die abgesehen vom Kopfraum, den ganzen Körper überzieht.

Die in dieser Studie untersuchten Filarien werden in die Familie Onchocercidae Leiper, 1911, und in die Unterfamilie Splendidofilariinae Chabaud und Choquet, 1953, eingeordnet. Es ist die erste Beschreibung einer dritten Art der Gattung Dunnifilaria Mullin und Balasingam, 1973, und gleichzeitig der ersten Spezies von Dunnifilaria auf dem amerikanischen Kontinent.

Diese Filarie unterscheidet sich von den anderen zwei bekannten Spezies von Dunnifilaria aufgrund der folgenden Kriterien: Größe, Länge des Ösophagus, Lage der Vulva, Länge des Schwanzes der Weibchen, Größe der Spicula, Anzahl und Anordnung der Kaudalpapillen und Größe der Mikrofilarien. Auch die Unterschiede hinsichtlich des Endwirtes, in der Lokalisation im Gewebe, und die geographische Verbreitung wurden als wichtige Merkmale gewertet, um den hier beschriebenen Wurm als eine neue Spezies anzusehen. Die Veröffentlichung der Neubeschreibung ist im Druck.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



Morphology and taxonomy of a new species of Dunnifilaria (Filarioidea; Onchocercidae) from the central nervous system of the American wood-rat, Neotoma micropus, in the north-east of Nuevo Leon in Mexico.

6 (b).- S U M M A R Y

A morphological and taxonomical study is presented in this paper on filariid worms which were found in the central nervous system of American wood-rats, Neotoma micropus, caught in the Municipality of Dr. Coss, Nuevo Leon State, Mexico. It is based on the histological examination of three of 100 naturally infected rodents and on the morphological description of 34 male worms, 27 female worms and of some microfilariae by light, scanning electron and transmission electron microscopy.

Adult worms were found living freely in the subarachnoidal spaces of the brain. Concerned were the cerebellum (in the peripheric subarachnoidal spaces and in those of the primary commissure of the cerebellum) and the medulla oblongata. In none of the studied cases there was found an invasion into the tissue or a mechanical damage caused by the adult worms. Neither were observed any inflammation or cell-mediated response in the tissue adjacent to the living worms.

Morphologically the anterior end of the adult worms of both sexes is formed by a light cephalic projection (head-shaped). It is surrounded by four pairs of submedian papillae which are arranged in an inner ring of two pairs of buccal papillae and an outer ring of two pairs of cervical papillae.

Both amphidial openings lie on the side of the central mouth opening which appears surrounded by a thick cuticular ring that extends over the whole length of the oesophagus wall.

The oesophagus is moderately long, not distinctly divided. It contains a biradiated oesophageal lumen in the anterior portion of the glandular region, whereas the lumen in the posterior portion is triradiated.

In both sexes, the cuticular surface of the adult worm shows fine transversal striations (only visible by SEM and TEM) which invariably extend over the whole body. The fine structure of the very thin cuticle consists of three layers followed by the hypodermis and the basal lamina of the coelomyarian muscular cells.

In the posterior end of the male worm are observed a semicircular cloaca, as well as four pairs of submedian sessile caudal papillae which are arranged in two pairs of perianal papillae and two pairs of postanal papillae. A big central papilla is localized directly before the cloaca.

The short, strong and nearly similar spicula are described as a pair of rolled plates which end in a knob-shaped apex and which show a central canal.

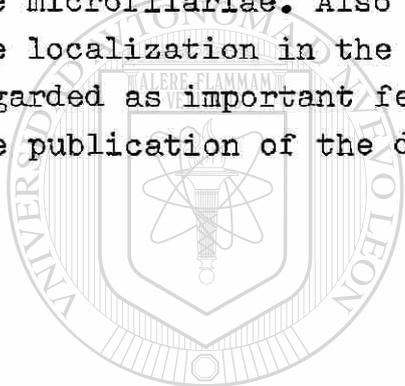
The female worm is characterized by a didelphic-opisthodelphic genital tract. Its semicircular vulva is localized behind the posterior end of the oesophagus, while the two uterine branches are longitudinally coiled extending almost along the whole body. At the posterior end the inconspicuous anus is denoted as a semicircular orifice which is subterminally situated in the right ventrolateral portion (observed only by SEM).

The short and sheathed microfilariae were found in the peripheral and cardiac blood of the rodents. The anterior end of the microfilaria is represented by a very short cephalic space which is limited by two nuclei. These correspond superficially with the first annulation. The posterior end is characterized by a long caudal space which is preceded by a row of four to five terminal nuclei.

The cuticular surface of the microfilaria shows fine transversal striations which are covering the whole body with the exception of the cephalic space.

The filariid worms described here are included into the family Onchocercidae Leiper, 1911, and into the subfamily Splendidofilariinae Chabaud and Choquet, 1953. This is the first description of a third species of the genus Dunnifilaria Mullin and Balasingam, 1973, and at the same time the first species of Dunnifilaria from the American continent.

This filaria is distinguished from the other two known species of the genus Dunnifilaria (D. ramachandrani and D. dilli) by the following criteria: size of the worms, length of the oesophagus, position of the vulva, length of the tail of the female, size of the spicula, number and arrangement of the caudal papillae and size of the microfilariae. Also the differences regarding the definitive host, the localization in the host, and the geographical distribution were regarded as important features to consider this worm as a new species. The publication of the description of the new species is in press.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

7.- CLAVE PARA LA LECTURA DE LAS ABBREVIACIONES EN LAS LAMINAS 2-13

af	apertura anfidial	hip	hipodermis
an	anillo nervioso	hu	hueso
ant	porción anterior de la cola	int	intestino
apb	anillo peribucal	mb	membrana basal
ar	aracnoides (meninge)	mf	microfilarias
cdl	cordón nervioso lateral	mo	médula oblonga
cdm	cordón nervioso medio	mus	musculatura
ci	cuerpo interno	nt	núcleos terminales
cl	cloaca	oa	orificio anal
cu	cutícula	ov	ovario
1	capa cuticular uno	pa	poro anal
2	capa cuticular dos	pb	papila bucal
3	capa cuticular tres	pc	papila cervical
ecd	espacio caudal	pcd	papilas caudales
ecf	espacio cefálico	1-4d	papilas caudales 1-4 derechas
eso	esófago	1-4i	papilas caudales 1-4 izquierdas
esp	espículas	pe	poro excretor
esp d	espícula derecha	pm	piamadre (meninge)
esp i	espícula izquierda	te	testículo
est	estrias cuticulares	ut	útero
ev	estructuras vesiculares	vg	vagina
fm	fibras musculares esofágicas	vi	vaina
hf	haces fibrosos	vu	vulva

8.- L I T E R A T U R A C I T A D A

- Anderson, R. C. y O. Bain, 1976: Keys to genera of the order Spirurida. Part 3. Diplostriaenoidea, Aproctoidea and Filarioidea. In CIH Keys to the Nematode Parasites of Vertebrates (eds. R. C. Anderson, A. G. Chabaud and S. Willmott) Commonwealth Agricultural Bureaux: Farnham Royal, Bucks. pp. 59-116.
- Aoki, Y., A. L. Vincent, L. R. Ash y D. Katamine, 1980: Scanning electron microscopy of third- and fourth stage larvae and adults of Brugia pahangi (Nematoda; Filarioidea). J. Parasitol. 66: 449-457.
- Berland, B., 1961: Use of glacial acetic acid for killing parasitic nematodes for collecting purposes. Nature 191: 1320-1321.
- Chandler, A. C., 1931: New nematode worms. Proc. U.S. Nat. Mus., vol. 78, art. 23, Pl. 2: 4-9.
- Deas, J. E., F. J. Aguilar y J. H. Miller, 1974: Fine structure of the cuticle of female Onchocerca volvulus. J. Parasitol. 60: 1006-1012.
- Dukes, D. C., M. Gelfand, K. G. Gadd, V. de V. Clarke y J. M.® Goldsmid, 1968: Cerebral filariasis caused by Acanthocheilonema perstans. Central Afr. J. Med. 14: 21-27.
- Dunn, F. L. y C. P. Ramachandran, 1962: A filarial heartworm of Malayan forest mammals. Med. J. Malaya 17: 87.
- Eberhard, M. L., 1984: Brugia lepori sp. n. (Filarioidea; Onchocercidae) from rabbits (Sylvilagus aquaticus, S. floridanus) in Louisiana. J. Parasitol. 70 : 576-579.
- Franz, M., 1979: Elektronenmikroskopische Untersuchung der Oberflächenstrukturen von Onchocerca volvulus (Leuckart, 1893) (Nematoda; Filarioidea). Dissertation, Fachbereich Biologie, Universität Hamburg. (100 pags.: Tesis-Doctoral en Alemán).

- Franz, M., 1980: Electron microscope study of the cuticle of male and female Onchocerca volvulus from various geographic areas. Tropenmed. Parasit. 31: 149-164.
- Franz, M., y E. Zielke, 1980: Scanning electron microscope study on larvae of Wuchereria bancrofti from the vector and from experimental rodent hosts. Tropenmed. Parasit. 31: 345-356.
- Franz, M., 1981: Trocknung kleiner Nematoden für die Raster-Elektronenmikroskopie. 14. Kolloquium des Arbeitskreis für Elektronenmikroskopische Direktabbildung und Analyse von Oberflächen (E-DO) in Innsbruck. 459-464.
- Franz, M., y W. Lenze, 1982: Scanning electron microscope study of adult Brugia malayi. Tropenmed. Parasit. 33: 17-22.
- Franz, M., K. J. Volkmer y W. Lenze, 1982: A case of dirofilariasis in man (Subgenus Noctiella): A scanning electron microscope study. Tropenmed. Parasit. 33: 31-32.
- García-Curiel, H., 1971: Taxonomía y notas ecológicas de los lagomorfos y roedores del Municipio de Apodaca, Nuevo León, México. Tesis-Profesional, especialidad Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 50 pags.
- Gutiérrez-González, J., 1980: Algunos helmintos parásitos en las ratas silvestres de Apodaca, Nuevo León, México. Tesis-Profesional, especialidad Q.B.P., Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 40 pags.
- Gutiérrez-Peña, E., 1983: Filariasis cerebral de la rata de campo, Neotoma micropus, en el Municipio de Dr. Coss, Nuevo León, México. Tesis-Profesional, especialidad Q.B.P., Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. 42 pags.
- Harry, W. H., y O. G. Willard, 1984: Seasonal prevalence of Chandlerella quisicali (Onchocercidae; Filarioidea) in brain of the common grackle (Quiscalus quiscula versicolor). Proc. Helm. Soc. Wash. 51 : 191-195.

- Kim, C. W., y M. C. Ledbetter, 1980: Surface morphology of Trichinella spiralis by scanning electron microscopy. J. Parasitol. 66: 75-81.
- Lee, D. L., 1966: The structure and composition of the helminth cuticle. Adv. Parasitol. 4: 187-254.
- Lenze, W., 1982: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an geschlechtsreifen Brugia malayi, Loa loa, Dirofilaria sp. (Subgenus Noctiella) und Onchocerca volvulus (Nematoda; Filarioidea). Dissertation, Fachbereich Medizin der Universität Hamburg. (57 pags.: Tesis-Doctoral en Alemán).
- Lian-Yin, H., L. R. Ash y M. Voge, -1984: Scanning electron microscope studies of adults, first- and third-stage larvae of Angiostrongylus cantonensis (Nematoda; Metastrongyloidea). Proc. Helm. Soc. Wash. 51 : 85-91.
- Lichtenfels, J. R., K. D. Murrell y P. A. Pilitt, 1983: Comparison of three subspecies of Trichinella spiralis by scanning electron microscopy. J. Parasitol. 69 : 1131-1140.
- Mak, J. W., 1979: Dunnifilaria dilli sp. n. (Nematoda; Filarioidea) from Rattus koratensis in Thailand. J. Helminth. 53: 73-78.
- Martínez-Palomo, A. y M. Martínez-Báez, 1977: Ultrastructure of the microfilaria of Onchocerca volvulus from Mexico. J. Parasitol. 63 : 1007-1018.
- Melles, J., 1983: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von Loa loa (Nematoda; Filarioidea). Dissertation, Fachbereich Medizin der Universität Hamburg. (75 pags.: Tesis-Doctoral en Alemán).
- Mullin, S. W. y S. Balasingam, 1973: Dunnifilaria ramachandrani gen. n., sp. n. (Nematoda; Filarioidea) from the long-tailed giant rat (Rattus sabanus) in Malaysia. Proc. Helm. Soc. Wash. 40 : 47 - 49.

- Odetoyinbo, J. A. y M. J. Ulmer, 1959: Studies on avian filarial worms of the subfamily Splendidofilariinae (Nematoda; Dipeta lonematidae). *J. Parasitol.* 45 (Suppl.): 58.
- Orihel, T. C., 1964: Brugia guyanensis sp. n. (Nematoda; Filarioidea) from the coatimundi (Nasua nasua vittata) in British Guiana. *J. Parasitol.* 50: 115-118.
- , 1965: Dirofilaria lutrae sp. n. (Nematoda; Filarioidea) from otters in the southeast United States. *J. Parasitol.* 51: 409-413.
- , 1966: Brugia tupaiae sp. n. (Nematoda; Filarioidea) in tree shrews (Tupaia glis) from Malaysia. *J. Parasitol.* 52: 162-165.
- , 1973: Cerebral filariasis in Rhodesia—a zoonotic infection?. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 22 : 596-599.
- Orihel, T. C. y J. H. Esslinger, 1973: Meningonema peruzzi gen. et sp. n. (Nematoda; Filarioidea) from the central nervous system of African monkeys. *J. Parasitol.* 59 : 437-441.
-
- Peruzzi, M., 1928: Cerebral filariasis in five monkeys infected with trypanosomal meningoencephalitis. League of Nations Health Org., Final Report of the Int. Comm. on Human Trypanosomiasis, pp. 309-313.
- Peters, K. R., 1980: Improved handling of structural fragile cell biological specimens during electron microscopic preparation by the exchange method. *J. Microsc.* 118: 429-441.
- Reimer, L. y G. Pfefferkorn, 1973: Raster-Elektronenmikroskopie. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 1-268.
- Reynolds, E. S., 1963: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17: 208-212.

- Robinson, E. J., 1971: Culicoides crepuscularis (Malloch) (Diptera; Ceratopogonidae) as a host for Chandlerella quisicali (von Linstow, 1904) Comb. N. (Filarioidea; Onchocercidae). J. Parasitol. 57 : 772-776.
- Shoho, Ch. y S. Uni, 1977: Scanning electron microscopy (SEM) of some Setaria species (Filarioidea; Nematoda). Z. Parasitenk. 53: 93-104.
- Sivanandam, S., A. A. Sandosham, y M. M. Wong, 1965: Filarial worms in heart, lung and liver of forest rats (Rattus sabanus). Med. J. Malaya 20: 64.
- Spurr, A. R., 1969: A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res. 26: 31-43.
- Vincent, A. L., L. R. Ash y S. P. Frommes, 1975: The ultrastructure of adult Brugia malayi (Brug, 1927) (Nematoda; Filarioidea). J. Parasitol. 61 : 499-512.
- Vincent, A. L., J. K. Portaro y L. R. Ash, 1975: A comparison of the body wall ultrastructure of Brugia pahangi with that of Brugia malayi. J. Parasitol. 63 : 567-570.
- von Linstow, O. F. B., 1904: Beobachtungen an Nematoden und Cestoden. Arch. Naturg. Berlin. 70: 297-309.
- Welker, G. W., 1962: Helminth parasites of the common grackle, Quiscalus quiscula versicolor Viellot, in Indiana. Ph. D. Dissertation. The Ohio State University, Columbus, Ohio. 103 p.
- Wong, M. M. y M. E. G. Brummer, 1978: Cuticular morphology of five species of Dirofilaria: Scanning electron microscope study. J. Parasitol. 64: 108-114.
- Yamaguti, S., 1961: Systema Helminthum. Vol. III. The Nematodes of Vertebrates. Parts 1-2. Interscience Publishers, New York and London. 1261 p.

CURRICULUM VITAE

- G U T I E R R E Z - P E Ñ A , Enrique de Jesús. Nacido el 17 de Agosto de 1960 en Monclova, Coahuila, México, como el cuarto hijo del matrimonio; Federico Gutiérrez Vázquez y Diamantina Peña Falcón. Infancia completa en la misma Ciudad de nacimiento.
- 1966-1972: Estudios elementales en la Escuela Primaria Federal Club de Leones No. 1 (los primeros tres grados) y Escuela Primaria Federal Club de Leones No. 2 (los últimos tres grados) en la Ciudad de Monclova, Coahuila, México.
- 1972-1975: Estudios de educación media en la Escuela Secundaria Federal No. 24 (ahora No. 1) en la Ciudad de Monclova, Coah., México.
- 1975-1977: Estudios de bachillerato básico (un semestre) en la Escuela Preparatoria Federal No. 1 en Monclova, Coah., México, y el resto en la Escuela Preparatoria Centro de Estudios Universitarios en la Ciudad de Monterrey, Nuevo León, México.
- 1977-1982: Estudios profesionales; Licenciatura como Químico Bacteriólogo Parasitólogo (con un año intermedio de servicio social en el proyecto; análisis parasitológicos en niños escolares de las Ciudades de Monterrey y Guadalupe, N.L., Mex.) en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en la Ciudad de Monterrey, N.L., México.
- 1982-1983: Estudio de investigación Tesis-Profesional con el tema; Filariasis cerebral de la rata de campo, Neotoma micropus, en el Municipio de Dr. Coss, N.L., Mex., desarrollado en el Departamento de Parasitología de la FCB-UANL, Monterrey, N.L., Mex.
- 1983, Diciembre 2: Exámen profesional.
- 1983-1985: Estudios de Maestría en Ciencias con especialidad en Parasitología de Vertebrados (estudio teórico cumplido con 110 créditos) en la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- 1985-1987: Estudios de investigación Tesis-Maestría con el tema; Sobre la Morfología y Taxonomía de una especie nueva de Dunnifilaria (Filarioidea; Onchocercidae) del sistema nervioso central de la rata de campo americana, Neotoma micropus, en el

Noreste del Estado de Nuevo León, México (con un estudio histológico de la infección y la morfología de los gusanos y microfilarias mediante la microscopía compuesta de luz, microscopía electrónica de barrido y microscopía electrónica de transmisión), desarrollado en el Departamento de Helminología del Instituto Bernhard Nocht, Hamburgo, República Federal de Alemania.

BECAS OBTENIDAS: Empresa Siderúrgica ALTOS HORNOS DE MEXICO, S.A., para los estudios profesionales de licenciatura (Agosto de 1979 a Diciembre de 1983).

-CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, para los estudios teóricos de la Maestría en Ciencias (Septiembre de 1983 a Marzo de 1985).

-UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON, para los estudios de investigación Tesis-Maestría en la República Federal de Alemania (Abril de 1985 a Julio de 1987).

PONENCIAS EN CONGRESOS: Hallazgo de una filarías cerebral en la rata de campo, Neotoma micropus, en el Municipio de Dr. Coss, Nuevo León, México. III Encuentro Regional de Investigación Biomédica. Facultad de Medicina, U.A.N.L. (Octubre de 1983).

-Participación con el mismo trabajo en el VII Congreso Nacional de Zoología. Jalapa, Veracruz, México (Diciembre de 1983).

-Studie über eine bisher unbekannte Filarie im Subarachnoidalraum der Feldratte Neotoma micropus in Mexiko. Kolloquium im Bernhard-Nocht-Institut. Hamburgo, República Federal de Alemania (Septiembre de 1986).

-Die Morphologie und Taxonomie einer neuen Dunnifilaria-Spezies (Filarioidea; Onchocercidae) im Zentralnervensystem der amerikanischen Feldratte, Neotoma micropus, im Nordosten des Staates Nuevo Leon, Mexiko. Seminar über Filariasis 1987 (Congreso Alemán sobre filariasis 1987). Bernhard-Nocht-Institut, Hamburgo, República Federal de Alemania (Junio de 1987).

FECHA PROBABLE DE EXAMEN-MAESTRIA: Septiembre-Octubre de 1987.

FREIE UND HANSESTADT HAMBURG

GESUNDHEITSBEHÖRDE

BERNHARD-NOCHT-INSTITUT FÜR
SCHIFFS- UND TROPENKRANKHEITEN

Abteilung: Helminthology

12th August 1987

Hamburg, den

Fernsprecher (040) 31 10 24 Durchwahl
Behördennetz 9.28 410

Bernhard-Nocht-Institut
Bernhard-Nocht-Straße 74, 2000 Hamburg 4

C E R T I F I C A T E

for Mr. Enrique de Jesús Gutiérrez Peña

After having completed a course in the German language at the Goethe Institute in Bremen Mr. Gutiérrez stayed from 1 September 1985 to 14 August 1987 in the Department of Helminthology of the Bernhard Nocht Institute. Mr. Gutiérrez was supported by a scholarship from the Autonomous University of Nuevo Leon in Mexico to work on a research project for the degree of a master of science in vertebrate parasitology at the University of Nuevo Leon. During this period he was registered as a student in the Faculty of Biology of the University of Hamburg.

During these two years Mr. Gutiérrez worked on the taxonomy and morphology of a new filaria species, which he had detected in Mexican rodents. He embedded the decalcified heads of infected rats in paraplast and examined the position of the nematode worms in the subarachnoidal space histologically. He prepared the worms and the microfilariae by critical point drying for scanning electron microscopic observation and examined them. Middle parts of the adult worms were embedded in plastic and semithin sections and ultrathin sections were studied by light and electron microscopy respectively.

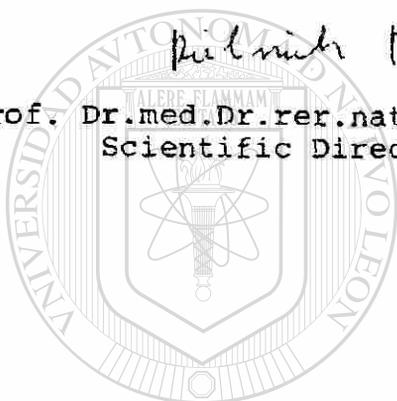
During these morphological studies Mr. Gutiérrez acquired good knowledge of the techniques used for scanning electron microscopy. He also acquired first knowledge of the procedures used in histology and transmission electron microscopy and of dark room techniques. All steps of preparation, observation and photography were performed by himself.

These studies lead to good scientific results. On 24 September 1986 Mr. Gutiérrez presented his findings in a preliminary form in a colloquium for staff members of the institute. On 19 June 1987 he presented some of his morphological findings in a Seminar on Filariasis in Hamburg. An abstract of this presentation is in press in "Tropical Medicine and Parasitology". With regard to the taxonomy of this new filaria species Mr. Gutiérrez travelled in December 1986 to the WHO Collaborating Centre for the Filarioidea at the CAB International Institute of Parasitology in St. Albans, U.K., where he discussed his findings with Dr. R. Muller, who confirmed the conclusions of Mr. Gutiérrez. The manuscript of the description of the new species was submitted to "Tropical Medicine and Parasitology" and it was accepted in July 1987 for publication. It will probably appear later in 1987. The morphological description of the surface structures of the new filaria based on the scanning electron microscopic studies will be published separately and part of this second manuscript has been completed.

According to the original plans a Spanish manuscript containing the main results of the histological, scanning electron microscopic and taxonomic results was prepared as a thesis for the master of science. This thesis has been completed and it will be submitted in near future to the University of Nuevo Leon.

Mr. Gutierrez has acquired a good knowledge of German, which enabled him to be integrated well in the department. He has been very hard working extending his working hours into the late evening and the weekends. One outstanding characteristic is his ability to focus very well on a special aim and to overcome all obstacles. Otherwise he would not have achieved so much in such a short period. Mr. Gutierrez had good relations to the staff members of the department.

Mr. Gutierrez leaves the department because his scholarship has ended. However, we will be glad to continue any type of cooperation with him and he will be wellcome to the department to continue his studies to acquire a doctorate or as a postdoctoral fellow.



Paul W. Büttner

Prof. Dr.med.Dr.rer.nat. D.W. Büttner
Scientific Director

PROF. D. W. BÜTTNER
TROPENINSTITUT
BERNHARD-NOCHT STR 74
D-2000 HAMBURG 4, GERMANY

UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

