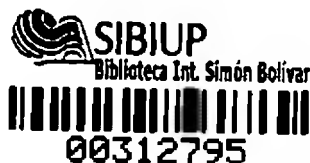


UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
PROGRAMA CENTROAMERICANO DE MAESTRÍA EN ENTOMOLOGÍA



PREPARACIÓN Y USO DE SANGRE BOVINA LIOFILIZADA PARA LA
ALIMENTACIÓN DE LARVAS DEL GUSANO BARRENADOR DEL
GANADO, *COCHLIOMYIA HOMINIVORAX* (COQUEREL, 1858)
(DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

POR
DIEGO ARMANDO MEDINA ARELLANO

PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ

2017

**PREPARACIÓN Y USO DE SANGRE BOVINA LIOFILIZADA PARA LA
ALIMENTACIÓN DE LARVAS DEL GUSANO BARRENADOR DEL
GANADO, *COCHLIOMYIA HOMINIVORAX* (COQUEREL, 1858)
(DIPTERA: CALLIPHORIDAE)**


TESIS

**Presentada como uno de los requisitos para optar al Título de Maestro en
Ciencias con Énfasis en Entomología**

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

**Permiso para su publicación total o parcial debe ser obtenido en la
Vicerrectoría de Investigación y Postgrado**

Aprobado:



Asesor



Jurado



Jurado

DEDICATORIA

A mi país Guatemala

A mis padres Ana Luz Arellano Ramirez y Roberto Guillermo Medina Barrientos

A mis abuelos Dora Ramirez (†), Estela de Sardá, Francisco Arellano (†) y Óscar Medina (†)

A mis padrinos Marta Yolanda Quevedo Orozco y Jorge Alberto Chiu Oliva.

A mis hermanos Ana Rosalde, Pablo Roberto y María Gabriela

A mi novia Denise Ivette Mejia Recinos

A mi sobrino Carlos Roberto Albanés Medina

A mi amiga. Zury (†)

AGRADECIMIENTOS

Al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) por todo su apoyo, sin ustedes esto no hubiera sido posible

Al Programa Centroamericano de Maestría en Entomología por brindarme nuevas herramientas para el ejercicio de mi profesión.

A Panamá y su gente, muchas gracias por la hospitalidad brindada

A la Comisión Panamá-Estados Unidos para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado (COPEG) y todo su personal

Al Servicio de Investigación Agrícola (ARS) y todo su personal, especialmente a Nicolás, Hermógenes, Domitildo, Mario y Rodolfo

Al Dr. Agustín Sagel por su confianza y amistad brindada.

A la Licda. Sabina Barrios y la Dra. Claudia Rengifo por sus aportes en la elaboración del manuscrito

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
1 OBJETIVOS	6
1.1 Objetivo General	6
1.2 Objetivos Específicos	6
2. MARCO TEÓRICO	8
2.1 MIASIS	8
2.2 BIOLOGÍA DE <i>COCHLIOMYIA HOMINIVORAX</i>	10
2.3 PROGRAMA DE ERRADICACIÓN DEL GUSANO BARRENADOR DEL GANADO	11
2.4 LIOFILIZACIÓN	12
3. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Sitio de estudio	14
3.2 Liofilización de sangre bovina	14
3.3 Preparación de dietas	15
3.3.1 Dieta de producción (Control 1)	15
3.3.2 Dieta de ARS (Control 2)	15
3.3.3 Sangre liofilizada	15
3.4 Incubación y alimentación de larvas	16
3.4.1 Primera alimentación	16
3.4.2 Segunda alimentación	16
3.4.3 Tercera alimentación	16
3.5 Cernido	17
3.6 Emergencia	18
3.7 Inducción	18
3.8 Eclosión	18
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
5. CONCLUSIONES	29
6. RECOMENDACIONES	31
7. BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	41

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No.1: Rendimiento Biológico	20
Cuadro No.2: Valores de pH	22
Cuadro No.3: Emergencia	24
Cuadro No.4: Oviposición	25
Cuadro No.5: Eclosión	26

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

Gráfico No.1: Volumen total de pupas	21
Gráfico No.2: Peso total de pupas	21
Gráfico No.3: Comparación de talla	23
Gráfico No.4: Medias de pH	23
Gráfico No.5: Emergencia	25
Gráfico No.6: Oviposición	27
Gráfico No.7: Eclosión	28
Figura No.1: Pupas alimentadas con sangre liofilizada	42
Figura No.2: Análisis de prueba físico-química de sangre liofilizada	43
Figura No.3: Análisis de prueba físico-química de sangre deshidratada en seco	44

ABREVIATURAS

GBG: Gusano Barrenador del Ganado

COPEG: Comisión Panamá-Estados Unidos para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado

ARS: Servicio de Investigación Agrícola.

HR: Humedad Relativa

RESUMEN

La miasis ocasionada por *Cochliomyia hominivorax* o Gusano Barrenador del Ganado (GBG) es considerada una de las más traumáticas y de mayor relevancia para la región debido a sus implicaciones económicas y su importancia en Salud Pública. La finalidad de esta investigación fue comparar los índices reproductivos y de desarrollo del GBG utilizando sangre bovina citratada y liofilizada, sangre bovina deshidratada en seco (usada actualmente por COPEG) y sangre líquida citratada bovina. La utilización de sangre liofilizada surge a través de la premisa que, debido a su proceso de elaboración constituye una alternativa de mejor calidad para la alimentación del GBG en función de la integridad de proteínas sanguíneas durante su procesamiento. Para la comparación de las distintas dietas se utilizaron los siguientes parámetros: peso total de pupas, talla de pupas, volumen total de pupas, pH de dieta, porcentaje de emergencia, porcentaje de oviposición y porcentaje de eclosión. En el caso de la sangre liofilizada, ésta demostró mejores índices de talla, emergencia y eclosión en comparación a la dieta a base de sangre deshidratada en seco

ABSTRACT

The myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* or Screwworm is considered one of the most traumatic and most relevant to the region due to its economic implications and its importance in Public Health. The purpose of this study was to compare the reproductive and developmental indexes of Screwworm using citrated and freeze-dried bovine blood, spray-dried bovine blood (currently used by COPEG) and bovine citrated liquid blood. The use of freeze-dried arises through the premise that, due to its process of elaboration constitutes an alternative of better quality for the feeding of the Screwworm in function of the integrity of sanguine proteins during its processing. For the comparison of the different diets, the following parameters were used: total pupae weight, pupae size, total pupae volume, dietary pH, emergency percentage, oviposition percentage and hatching percentage. In the case of freeze-dried blood, it showed better indexes of size, emergence and hatching compared to the diet based on spray-dried blood.

INTRODUCCIÓN

La miasis ocasionada por *Cochliomyia hominivorax* o Gusano Barrenador del Ganado (GBG) es considerada una de las más traumáticas y de mayor relevancia para la región, esto debido a su impacto económico por costos de tratamientos, inspecciones y manejo diario en explotaciones pecuarias (Pitti, *et al.*, 2011) Por otro lado, la reducción en la productividad y mortalidad del ganado tiene efectos directos sobre la seguridad alimentaria de la región, así como implicaciones en Salud Pública (Vargas-Terán, *et al.*, 2005) Debido a estos factores, durante la década de 1950 se realizaron distintos estudios que llevaron a desarrollar la técnica del insecto estéril, a través de la cual las poblaciones de este parásito fueron erradicadas de amplias zonas geográficas, evitando pérdidas económicas aproximadas a los US\$300 millones anuales sólo en el Estado de Texas y US\$588 millones en América Central (Wyss & Galvin, 1996)

Desde el año 2006 la Comisión Panamá-Estados Unidos para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado (COPEG) es la institución encargada de producir y dispersar moscas estériles, actividades que conjuntamente a la vigilancia epidemiológica garantizan el sostenimiento de la barrera biológica permanente de prevención de dicho parásito

Actualmente COPEG utiliza sangre entera de bovino en polvo, huevo entero de gallina deshidratado y leche de soya deshidratada para la alimentación de larvas del GBG

(Chaudhury, *et al.*, 2015), esto combinado a fibra de celulosa que cumple función de medio de crianza (Chaudhury & Skoda, 2007), proporcionan un ambiente adecuado para el desarrollo de los individuos. No obstante, el abastecimiento de sangre de bovino pulverizada, debido al costo elevado e irregularidad para su obtención constituye una de las problemáticas de la institución (Chaudhury, *et al.*, 2015)

Así mismo, en el programa de crianza del GBG la alimentación de las larvas constituye el rubro de mayor representación en los costos de operación (Mastrangelo, *et al.*, 2014), por lo que el desarrollo de dietas prácticas, efectivas y económicas es un objetivo constante (Forero, 2007b). Los insumos utilizados para desarrollar la dieta del GBG constituyen un costo de \$0 19-0 22 por cada 1000 larvas producidas, por tanto, proteína de menor costo y con disponibilidad local brindan una solución para la formulación de dietas a menores costos (Chen *et al.*, 2014)

Por otro lado, el uso de sangre pulverizada y deshidratada a altas temperaturas ($\sim 175^{\circ}\text{C}$) *-spray drying-* (usada actualmente por COPEG) disminuye el valor nutritivo de las proteínas plasmáticas (Rory & Delaney, 1974) debido al daño de sus enlaces covalentes cuando se exponen a temperaturas mayores a los 100°C (Somero, 1995)

Dadas las circunstancias, este estudio tiene como objetivo evaluar sangre liofilizada como sustituto para la elaboración de dietas de larvas del GBG, ya que constituye una materia prima local y disponible, además que el proceso de liofilizado garantiza que los componentes sanguíneos no sufren cambios morfológicos y/o químicos, por tanto, la proteína ingerida es

de mayor calidad, traducándose en obtención de mejores índices de desarrollo y reproductivos para el programa de crianza del GBG

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la dieta a base de sangre liofilizada sobre el desarrollo y reproducción de *Cochliomyia hominivorax*

1.2 Objetivos Específicos

- (1) Comparar el peso obtenido de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco.
- (2) Comparar la talla obtenida de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco
- (3) Comparar el volumen total obtenido de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco
- (4) Comparar el pH de las dietas a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco utilizadas para la alimentación de larvas de *Cochliomyia hominivorax*

- (5) Comparar el porcentaje de emergencia obtenido de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta con sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco
- (6) Comparar el porcentaje de oviposición obtenido de unidades muestrales de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco.
- (7) Comparar los porcentajes de eclosión de huevos de las unidades muestrales de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 MIASIS

El término miasis hace referencia a la infestación de larvas de dípteros en animales vertebrados, pudiendo causar perjuicios temporales o permanentes en sus hospederos (Anziani, 2006 & Forero, 2011), y es en este sentido que Forero y colaboradores (2007b) señalan que la miasis causada por el Gusano Barrenador del Ganado (GBG) es una de las más desagradables y perjudiciales debido a que facilita procesos patológicos que pueden conducir a la muerte del individuo afectado. Por otro lado, su presencia es destacada en países del Caribe y América del Sur (De Araújo, 2011) debido a las importantes pérdidas en diferentes sistemas de producción animal, a la vez considerándose una zoonosis con serias implicaciones en salud pública (Forero, *et al* , 2007a)

Gusano Barrenador del Ganado (GBG) es el nombre común dado a un díptero cuyo nombre científico es *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858), cuyas larvas son parásitos primarios obligados de animales de sangre caliente, incluido el hombre, provocando una condición clínica conocida como miasis traumática (Forero, *et al* , 2007a, Quiroz Romero, 1990), cuya incidencia y severidad depende de condiciones locales, tales como distribución y densidad del ganado, poblaciones silvestres y sus hábitos migratorios, así como la densidad de los asentamientos humanos (Vargas-Terán, *et al* , 2005)

En relación al riesgo asociado a la miasis causado por *C.hominivorax*, Forero (2011) detalla que la presencia de heridas en animales es el factor clave debido al carácter oportunista en las miasis traumáticas. En este sentido, las heridas han sido subdivididas en dos grupos naturales, tales como mordeduras de murciélagos hematófagos, aquellas provocadas por peleas, picaduras de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*), aberturas umbilicales y retención de anexos fetales, o bien ser de origen antrópico: castración, descorne, marcación, esquileo, abrasiones por alambre de púas, entre otras (Forero, *et al* , 2009; Reck, *et al* , 2014). Así mismo, los autores señalan que, en ambientes tropicales *C. hominivorax* permanece durante todo el año y es más abundante en áreas usadas por el ganado bovino.

Por otro lado, las miasis en seres humanos ocurren principalmente en áreas rurales, en donde el riesgo está asociado a malos hábitos de higiene, educación sanitaria ausente y pediculosis, ésta última debido a las heridas expuestas ocasionadas por el prurito (Forero, *et al* , 2009, Teixeira, *et al* , 2007).

Con respecto a microorganismos asociadas con el GBG, Caballero y colaboradores (1996) aislaron de larvas y heridas causadas por éstas, géneros bacterianos tales como *Escherichia*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, entre otras, los cuales pueden complicar las lesiones causadas por este tipo de miasis al provocar infecciones secundarias (Islam, *et al* , 2015).

2.2 BIOLOGÍA DE *COCHLIOMYIA HOMINIVORAX*

Las hembras de *C. hominivorax* colocan aproximadamente 200 huevos durante cada oviposición, los cuales son puestos en paquetes o queresas ordenadas en hileras sobre el borde de heridas recientes y secas. Los huevos se caracterizan por ser blanquecinos con superficie reticular y con una incisión de tapón completo. Después del período de eclosión (aproximadamente 24 horas), las larvas que ingieren tejidos vivos (biontófagas), inician su alimentación congregadas en paquetes y excavando cavidades, en donde la porción cefálica es introducida en la herida y la posterior es expuesta, ya que en esta porción se ubican los espiráculos o aberturas respiratorias. Al cabo de cinco a siete días (con aproximadamente 15 milímetros de largo), las larvas abandonan el hospedador y penetran el suelo para pupar (Barriga, 2002, Bowman, *et al* , 2004, Quiroz Romero, 1990, Thomas & Mangan, 1989)

Las larvas tienen troncos traqueales que llegan de la parte posterior de los espiráculos, siendo pigmentados y oscuros en los segmentos 12° hasta el 10° o 9°. El margen posterior del segmento 11 tiene un anillo completo de espinas y sus espiráculos posteriores son grandes y poseen pentrema abierto o incompleto y botón imperceptible, mientras que los anteriores tienen de 7 a 9 ramas. Finalmente, la pared ventral de la faringe es lisa (Bowman, *et al* , 2004, Florez & Wolff, 2009 & Quiroz Romero, 1990)

Las moscas adultas emergen de las envolturas pupales entre una y varias semanas más tarde, siendo tres veces más grandes que la mosca doméstica y presentando color verde o azul metálico característico. Con respecto a los hábitos reproductivos, el apareamiento se da solamente una vez y es llevado a cabo durante la vitelogénesis temprana, es entonces que

la hembra ovíparos por primera vez desde su eclosión (Bowman, *et al.*, 2004, Eldridge & Edman, 2004, Wall & Shearer, 2001)

A la emergencia, el primer ciclo ovárico en la ovariole está listo y ha dejado el germinarium a la edad pupal de siete días (Adams & Reinecke, 1979), lo cual explica el porqué no requieren proteína para madurar los huevos (autógenos) al menos durante los primeros dos o tres ciclos gonotróficos (Bowman, *et al.*, 2004, Eldridge & Edman, 2004, Thomas & Mangan, 1989, Wall & Shearer, 2001),

Riemann (1965) señala que a pesar de que durante mucho tiempo se consideró y generalizó que muchos espermatozoides penetraban al huevo de los insectos, la gran mayoría de los huevos de *C. hominivorax* solo contienen un espermatozoide. En otros casos, las hembras inseminadas depositan huevos que no han sido fertilizados, por tal motivo el 100% de los huevos no eclosionan.

La importancia nutricional de las heridas para las hembras de GBG radica en aporte de energía y proteína necesaria para continuar los ciclos gonotróficos (Thomas & Mangan, 1989)

2.3 PROGRAMA DE ERRADICACIÓN DEL GUSANO BARRENADOR DEL GANADO

A raíz del estudio conductual y fisiológico de *C. hominivorax* durante la década de 1950, se determinó que la exposición de las pupas del GBG a radiación por ionización,

producía adultos estériles, de los cuales, los machos al aparearse con hembras silvestres producían huevos incapaces de eclosionar. Este desarrollo técnico-científico y la frecuencia copulatoria de las hembras (monógamas) de *C. hominivorax*, que conjuntamente a la rareza de encontrar formas sexualmente inmaduras en la naturaleza condujo a desarrollar la técnica del insecto estéril, a través de la cual, las poblaciones de este parásito fueron erradicadas de amplias zonas geográficas, evitando pérdidas económicas aproximadas a los US\$300 millones anuales sólo en el Estado de Texas y US\$588 millones en América Central (Edman, 2004, Forero, *et al*, 2007a, Thomas & Mangan, 1989, Williams, 2010, Wyss & Galvin, 1996)

A medida que la investigación del programa de control y erradicación del GBG avanzó, se determinó que una estrategia adecuada sería la implementación de barrera biológicas, siendo Panamá el país elegido debido a la ausencia de caminos que atravesen El Darién (Galvin & Wyss, 1996), dando origen a la Comisión Panamá-Estados Unidos para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado (COPEG), encargada de producir moscas estériles de dicha especie.

2.4 LIOFILIZACIÓN

Según Spargo y colaboradores (1997), el término liofilización corresponde al congelamiento de una sustancia para luego reducir la concentración de uno de los solventes a través de sublimación, desorción y vacío.

La liofilización es un acercamiento potencial para la preservación de células sanguíneas a largo plazo (Jianping, *et al* , 2004), pues dicho proceso previene de cambios químicos y morfológicos en los eritrocitos, específicamente en el rango de superficie-volumen, viscosidad interna y rigidez de membrana (Sowewimo-Coker *et al* ,1993, Han *et al* , 2005 & Scott *et al* , 2005) Por otro lado, la viabilidad para su posterior almacenamiento está dada por el mantenimiento de la integridad de la sangre durante diez meses a temperatura ambiente, mientras que su reconstitución con agua provee una estabilidad de dos semanas. (Subramanian *et al* , 1985 & Jianping *et al* , 2004)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Sitio de estudio

Este estudio se realizó en las instalaciones del Servicio de Investigación Agrícola (ARS *por sus siglas en inglés*) de la Comisión Panamá-Estados Unidos para la Erradicación y Prevención del Gusano Barrenador del Ganado, ubicada en la comunidad de Pacora, Panamá

3.2 Liofilización de sangre bovina

El proceso de liofilizado se llevó a cabo utilizando sangre de bovino citratada (Chaudhury, *et al* , 2011) y congelada a -20°C (Quan *et al.*, 2004), para luego transferirla a envases de vidrio del liofilizador Labconco® modelo 7750020, en donde una temperatura de -45°C (Han, Y. *et al* , 2005) y una presión de 0.77 milibares fueron constantes (Spargo, *et al* , 1997)

Con respecto al tiempo de liofilizado, tomó 48 horas no continuas procesar lotes de ~2 kilogramos, teniendo una pérdida del ~72% del volumen total, dato similar al presentado por Rindler y colaboradores (1999)

3.3 Preparación de dietas

Para la elaboración de cada una de las dietas, se utilizaron los siguientes porcentajes de cada ingrediente

3.3.1 Dieta de producción (Control 1)

Fibra de celulosa (5.25%) (Chaudhury & Skoda, 2007), sangre en polvo deshidratada en seco (4.5%), huevo en polvo (5.0%), leche en polvo (4.5%), formaldehído (0.10%) (Sagel, *et al*, 2015) y agua caliente (80.65%)

3.3.2 Dieta de ARS (Control 2)

Fibra de celulosa (5.25%) (Chaudhury & Skoda, 2007), sangre bovina líquida fresca citratada (16%) (Chaudhury, *et al*, 2011), huevo en polvo (5.0%), leche en polvo (4.5%), formaldehído (0.10%) (Sagel, *et al*, 2015) y agua caliente (69.15%)

3.3.3 Sangre liofilizada

Fibra de celulosa (5.25%) (Chaudhury & Skoda, 2007), sangre bovina citratada y liofilizada (4.5%), huevo en polvo (5.0%), leche en polvo (4.5%), formaldehído (0.10%) (Sagel, *et al*, 2015) y agua caliente (80.65%)

3.4 Incubación y alimentación de larvas

3.4.1 Primera alimentación

Previo a realizar la incubación, se tomó tres veces el pH en cada una de las dietas. Para esta etapa se utilizaron 75 miligramos de huevos de la línea Jamaica-06 (J-06) de la Colonia de producción de COPEG, los cuales fueron colocados sobre 100 mililitros de dieta en una charola grande con tapa agujereada cerrada (capacidad 16 litros) e incubados a 41°C y 80% de Humedad Relativa. Luego de 24 horas, las charolas (tres por tratamiento en cada réplica) fueron transferidas a otra habitación, en donde se mantuvo una temperatura de 37°C y 55% de Humedad Relativa (HR).

3.4.2 Segunda alimentación

Pasadas 48 horas desde la incubación, se agregaron 300 mililitros de dieta sobre la charola, la cual se dejó semiabierta. El pH se tomó tres veces en el área de la dieta antigua (primera alimentación).

3.4.3 Tercera alimentación

Luego de 72 horas desde la incubación, se agregaron 800 mililitros de dieta nueva sobre la antigua. Las tapas de las charolas fueron eliminadas y se realizó nueva rotación de cuarto, en donde una temperatura de 31°C y 60% HR fue constante. Las charolas

permanecieron en el cuarto de crecimiento durante 96 horas, esto con la finalidad de iniciar el descenso y pupación de larvas sobre 0.5 pulgadas de aserrín

3.5 Cernido

Durante el séptimo día posterior a la incubación se realizó el cernido de pupas, esto con la finalidad de obtener valores de rendimiento biológico de las larvas criadas, para lo cual se registraron datos de los siguientes parámetros:

- Volumen total de pupas obtenidas por charola
- Peso total de pupas obtenidas por charola
- Número de pupas en 25 mililitros del total colectado
- Peso de pupas en 25 mililitros del total colectado

Los últimos dos parámetros sirvieron de base para calcular la talla de los individuos colectados (Chaudhury, *et al* , 2015) Posteriormente se colocaron 50 mililitros de pupas en recipientes plásticos con aserrín en jaulas pequeñas (dos por cada repetición de cada uno de los tratamientos) Así mismo, para determinar el porcentaje de emergencia se colocaron 100 pupas en recipientes plásticos pequeños con tapa y aserrín (tres por cada repetición de cada uno de los tratamientos)

3.6 Emergencia

En el décimo sexto día fue suministrada agua destilada y dieta para adultos en suficiente cantidad. La dieta de adultos consistió en 225 gramos de huevo, 1800 gramos de azúcar, 45 gramos de carragenato y 2430 mililitros de agua.

3.7 Inducción

Seis días después de la emergencia, fue colocado un dispositivo para la oviposición de las hembras, consistiendo en un recipiente plástico con tapa conteniendo agua caliente, sobre el cual se colocaron aproximadamente tres gramos de carne molida de bovino con líquido atrayente (Chaudhury, *et al.*, 2012). Posteriormente las jaulas fueron llevadas a un área oscura durante tres horas para facilitar la oviposición. Finalmente se pesó la cantidad de huevos obtenidos en cada una de las jaulas.

3.8 Eclosión

En platos Petri con papel filtro negro y toallas de papel humedecidas con agua destilada, fueron alineados 100 huevos de cada jaula (dos platos Petri por cada jaula utilizada) para determinar el porcentaje de eclosión a una temperatura de 38°C durante 24 horas. Previo a la alineación de los huevos, estos fueron separados de la queratina utilizando hidróxido de potasio al 4% (Berkebile & Skoda, 2002) durante dos minutos en un tubo de ensayo, el cual fue gentilmente agitado para evitar daños a los huevecillos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos (ver Cuadro no 1) y a través de ANOVA simple, en relación al peso y talla de las pupas, no hubo diferencia entre los tratamientos ($p > 0.05$), mientras que en el volumen total sí existe diferencia entre éstos ($p = 0.0571$), por lo cual se realizó un test de Tukey, en el cual existe diferencia entre la dieta Control de ARS y la dieta a base de sangre liofilizada ($p = 0.0479$), pudiendo ser apreciado en los Gráficos No 1, No.2 y No 3

Es importante considerar que los análisis realizados hacen alusión a la cantidad de pupas obtenidas, no así al total de individuos presentes (pupas y larvas) Hightower y colaboradores (1971) señalan que la etapa crítica para pupar del GBG es alcanzada cuando éste ha crecido cerca del 50% de su peso potencial. Las observaciones realizadas durante el estudio, mostraron que los insectos alimentados con la dieta a base de sangre liofilizada (al ser esta materia prima de lotes pequeños y no homogéneos) mostraron heterogeneidad durante el desarrollo larvario (ver Figura no 1), por lo cual la cantidad de pupas presentes fue menor en comparación al resto; sin embargo, la talla o el tamaño de las pupas del grupo alimentado con sangre liofilizada se observó dentro del rango aceptable para efectos de calidad deseada. La media de todos los tratamientos está sobre el límite mínimo recomendado por Hightower y colaboradores (60.5 miligramos) (1972)

Cuadro No.1: Rendimiento Biológico

		Control 1 Dieta Producción		Control 2 Dieta ARS sangre líquida		Tratamiento 1 sangre liofilizada	
		χ	σ	χ	σ	χ	σ
I Réplica Hatching 96.44%	Volumen Total (ml)	218.33	42.52	212.33	19.14	194.33	51.05
	Peso Total (mg)	101.43	18.24	97.90	9.41	93.37	21.30
	Peso 25 ml (mg)	12.30	0.70	12.10	0.30	12.53	0.47
	No Individuos 25ml	191.00	7.81	176.67	4.51	194.00	7.94
	Talla (mg)	64.37	1.64	68.67	1.70	64.60	0.95
II Réplica Hatching 95.36%	Volumen Total (ml)	204.00	31.43	243.33	11.55	225.00	39.69
	Peso Total (mg)	97.82	10.29	110.99	5.77	110.63	7.45
	Peso 25 ml (mg)	11.70	0.94	10.74	0.08	12.02	0.88
	No Individuos 25ml	179.33	16.07	161.00	2.65	163.33	19.76
	Talla (mg)	65.30	0.70	66.73	0.75	73.90	3.70
III Réplica Hatching 96.92%	Volumen Total (ml)	243.33	11.55	129.00	26.51	177.00	68.02
	Peso Total (mg)	113.28	5.78	62.13	8.76	87.83	30.37
	Peso 25 ml (mg)	11.57	0.45	11.81	0.18	11.83	0.21
	No Individuos 25ml	184.33	8.74	162.33	5.86	165.67	11.72
	Talla (mg)	62.77	1.46	72.80	3.57	71.67	5.16
IV Réplica Hatching 94.53%	Volumen Total (ml)	223.33	30.55	245.00	13.23	202.67	24.11
	Peso Total (mg)	101.49	15.59	114.13	8.05	95.41	8.99
	Peso 25 ml (mg)	11.38	0.36	11.70	0.33	11.53	0.63
	No Individuos 25ml	174.00	7.21	174.67	6.11	174.00	13.11
	Talla (mg)	65.43	2.45	67.00	0.44	66.33	1.63

Si bien los resultados del análisis estadístico en relación a la talla de pupa no reflejan diferencias, sí existe una tendencia en la cual la dieta a base de sangre liofilizada presenta valores superiores en comparación al resto (ver Gráfico no 3), lo cual es congruente con lo expresado por Spates & Hightower (1970), quienes indican que diferencias en tamaño y peso pueden deberse a mayor tiempo de alimentación en el estado larvario

Gráfico No.1: Volumen total de pupas

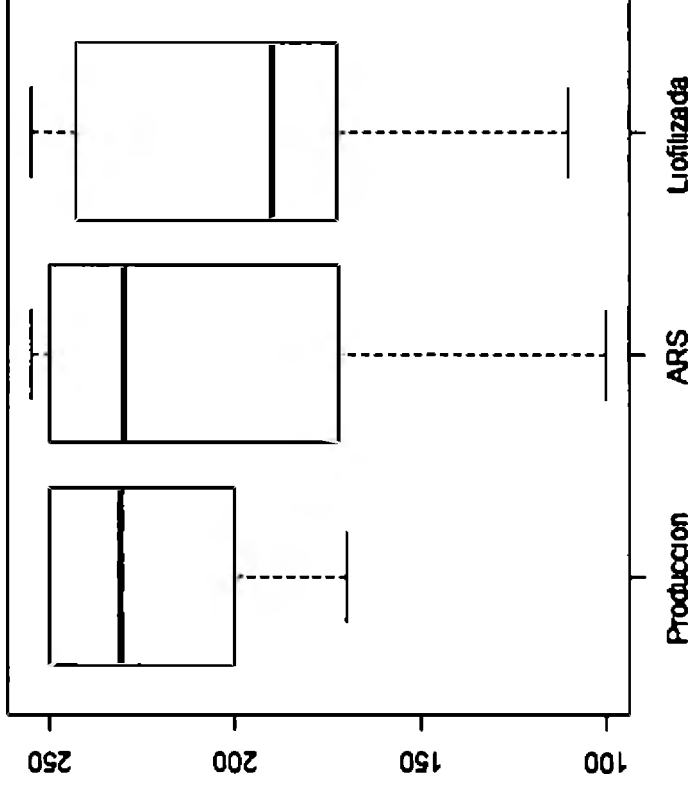
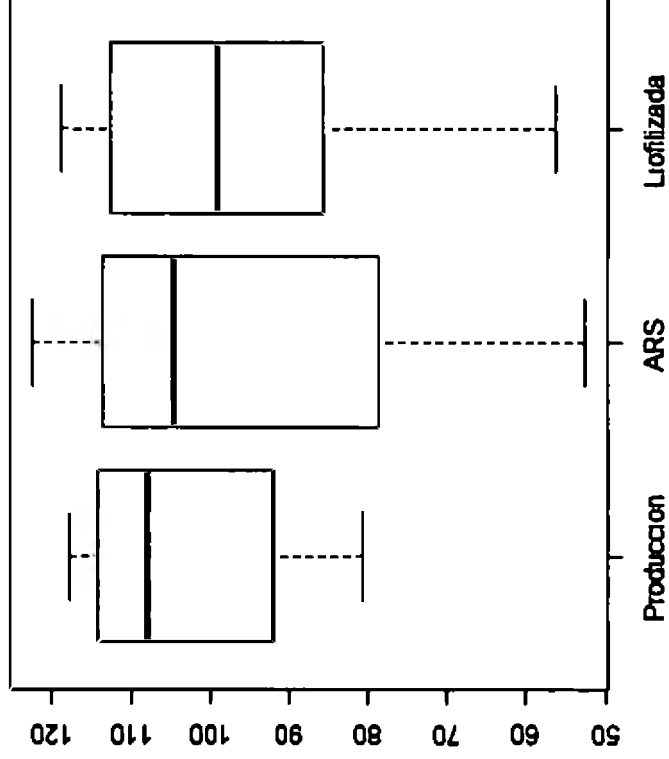


Gráfico No.2: Peso total de pupas



Con respecto a los valores de pH en las dietas utilizadas (ver Cuadro No 2), sí existe diferencia estadística en la prueba de ANOVA ($p=0.00212$) La prueba de Tukey indica que no existe diferencia entre la dieta control de ARS y la dieta a base de sangre liofilizada ($p=0.68$), mientras que sí existe diferencia entre la dieta control de ARS y la dieta de producción ($p=0.0022$) Así mismo, existe diferencia entre la dieta de producción y la dieta a base de sangre liofilizada ($p=0.0236$)

Cuadro No.2: Valores pH obtenidos durante la prueba

		Control 1 Dieta Producción		Control 2 Dieta ARS sangre líquida		Tratamiento 1 sangre liofilizada	
		χ	σ	χ	σ	χ	σ
I Réplica	Incubación	7.02	0.11	7.2	0.07	7.25	0.02
	1ra. Alimentación	7.2	0.14	6.44	0.62	6.44	0.62
	2da. Alimentación	7.89	0.03	6.48	0.29	6.69	0.94
II Réplica	Incubación	6.33	0.89	6.27	0.26	6.82	0.50
	1ra. Alimentación	6.92	1.66	6.52	0.5	6.44	1.04
	2da. Alimentación	7.09	1.51	7.39	0.23	6.69	0.73
III Réplica	Incubación	6.68	0.58	6.5	0.18	6.65	0.62
	1ra. Alimentación	7.73	0.11	6.45	0.88	6.92	0.76
	2da. Alimentación	8.15	0.05	6.45	0.85	7.03	0.58
IV Réplica	Incubación	6.87	0.27	6.62	0.27	6.1	0.56
	1ra. Alimentación	7.01	0.42	6.54	0.87	7.15	0.25
	2da. Alimentación	8.04	0.29	7.65	0.48	6.16	0.01

Chaudhury & Skoda (2009) señalan que larvas del GBG crecen y desarrollan normalmente en dietas con pH comprendido entre 7.5 y 5.0, mientras que una reducción del pH inicial dietario de 7.5 a 6.5 resulta en una producción significativa de pupas y larvas de mayor tamaño, lo cual explicaría la tendencia observada en el Gráfico no 3, donde la dieta control de ARS y la dieta de sangre liofilizada mantienen valores cercanos a 6.5 (ver Gráfico

no.4), siendo la disminución del pH debido a la liberación de metabolitos ácidos producidos por la actividad microbiana del medio

Gráfico No.3: Comparación de talla

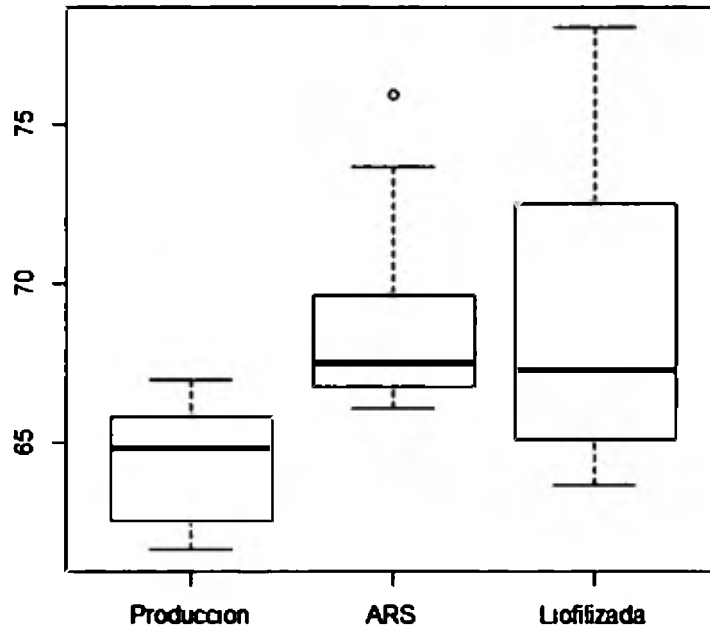
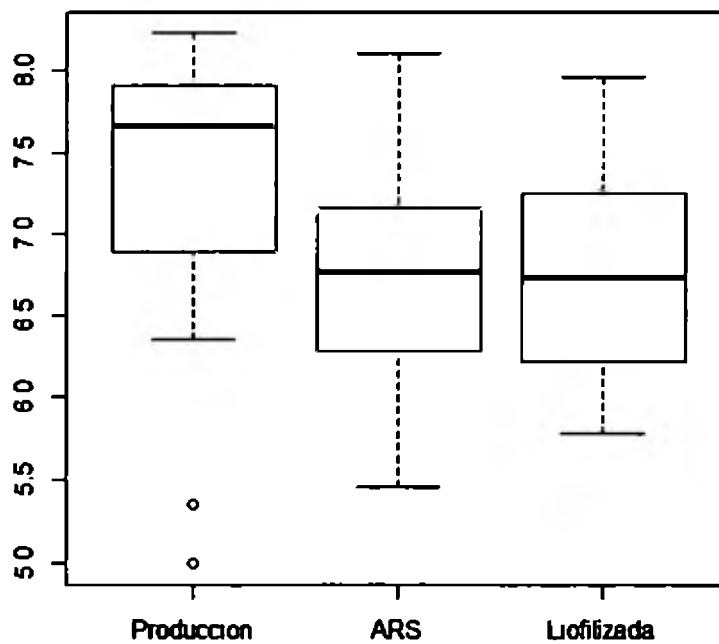


Gráfico no.4: Medias de pH



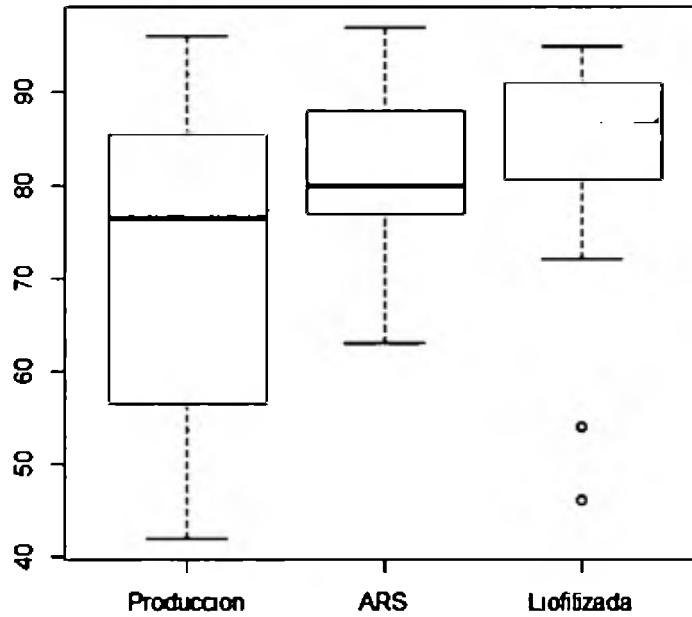
Según los datos obtenidos (ver Cuadro No.3) y la prueba de ANOVA realizada, sí existe diferencia ($p=0.00191$) en el porcentaje de emergencia, por lo cual se realizó una prueba de Tukey, en donde no existe diferencia entre la dieta control de ARS y la dieta a base de sangre liofilizada ($p=0.72$). Por otro lado, sí existe diferencia entre la dieta de producción y la dieta de ARS ($p=0.0216$). Finalmente, la prueba indica que también existe diferencia entre la dieta de producción y la dieta a base de sangre liofilizada ($p=0.002155$)

Cuadro No.3: Emergencia

		Repetición A		Repetición B		Repetición C	
		χ	σ	χ	σ	χ	σ
I	Réplica						
	Control 1 Dieta Producción	86.3	12.7	80.3	15.6	85.3	2.52
	Control 2 Dieta ARS	83.7	7.23	81	3.61	76.3	11
	Dieta sangre liofilizada	92.7	1.53	91	1.73	91.3	2.52
II	Réplica						
	Control 1 Dieta Producción	59	22.5	70	16	64	15.6
	Control 2 Dieta ARS	93	1.73	89.3	5.51	83.3	4.04
	Dieta sangre liofilizada	62.7	22.3	80.3	4.04	70	15.1
III	Réplica						
	Control 1 Dieta Producción	50.7	7.57	81.3	8.74	83	10.1
	Control 2 Dieta ARS	78	13	92.7	6.66	78.3	6.11
	Dieta sangre liofilizada	87.7	5.51	80.7	4.16	83.3	7.77
IV	Réplica						
	Control 1 Dieta Producción	79.7	12.3	78	12.5	59.7	11.2
	Control 2 Dieta ARS	78.3	1.53	71.3	8.08	68.3	4.73
	Dieta sangre liofilizada	87	1	82.3	4.04	92	2.65

En relación a los datos de oviposición (ver Cuadro No 4), la prueba de ANOVA señala que sí existe diferencia, en donde la prueba de Tukey indica que existe diferencia entre la dieta de ARS y la dieta a base de sangre liofilizada ($p=0.0376$), no así entre las dietas de producción y la dieta de ARS ($p=0.6326$); y las dietas de producción y la dieta a base de sangre liofilizada ($p=0.2537$)

Gráfico No.5: Emergencia



Cuadro No.4: Oviposición

		Repetición A		Repetición B		Repetición C			
		χ	σ	χ	σ	χ	σ		
I	Réplica	Control 1 Dieta Producción		50	48.1	158	39.6	119	164
		Control 2 Dieta ARS		285	326	279	284	168	26.2
		Dieta sangre liofilizada		621	399	847	19.1	514	184
II	Réplica	Control 1 Dieta Producción		95	2.83	542	232	306	317
		Control 2 Dieta ARS		327	438	492	244	452	39.6
		Dieta sangre liofilizada		119	69.3	470	305	565	184
III	Réplica	Control 1 Dieta Producción		620	204	685	305	732	156
		Control 2 Dieta ARS		204	58.7	298	101	159	120
		Dieta sangre liofilizada		715	187	473	464	876	177
IV	Réplica	Control 1 Dieta Producción		1137	203	1112	172	597	19.1
		Control 2 Dieta ARS		976	120	571	302	874	366
		Dieta sangre liofilizada		912	47.4	972	34.6	935	96.9

Con respecto a la eclosión (ver Cuadro No.5), sí existe diferencia entre los tratamientos ($P=0.0268$), en donde la prueba de Tukey señala que no existe diferencia entre la dieta control de ARS y la dieta a base de sangre liofilizada ($p=0.88$). Así mismo, tampoco existe diferencia entre la dieta de producción y la dieta control de ARS ($p=0.094$). Por otro

lado, si existe diferencia entre la dieta de producción y la dieta a base de sangre liofilizada (p=0.030)

Cuadro No.5: Eclosión

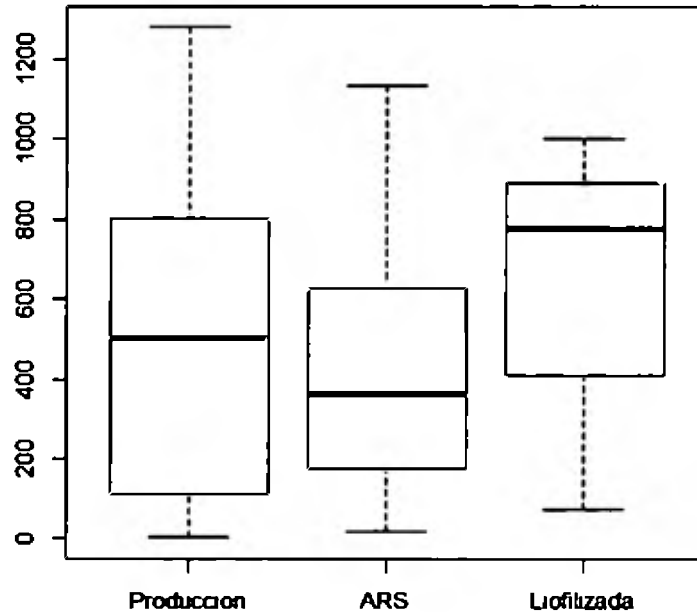
		Repetición A		Repetición B		Repetición C	
		χ	σ	χ	σ	χ	σ
I Réplica	Control 1 Dieta Producción	96.2	0	75.3	3.54	81.4	25.1
	Control 2 Dieta ARS	91.7	0.54	82.5	8.4	93	3.73
	Dieta sangre liofilizada	92.2	3.05	93.5	1.63	88.5	7.57
II Réplica	Control 1 Dieta Producción	84.8	2.19	85	5.33	76.1	3.03
	Control 2 Dieta ARS	82.5	1.29	86.2	5.07	89.8	0
	Dieta sangre liofilizada	89.4	6.4	88.9	8.15	70.6	20.9
III Réplica	Control 1 Dieta Producción	80.2	9.65	83.9	9.79	82.5	1.2
	Control 2 Dieta ARS	85.7	4.72	90.7	0.84	88.4	6.07
	Dieta sangre liofilizada	85	11.5	92.4	4.07	89.8	0.75
IV Réplica	Control 1 Dieta Producción	86.7	0.75	91.2	1.42	88.9	4.99
	Control 2 Dieta ARS	92.4	1.61	90.8	3.54	90.1	0.11
	Dieta sangre liofilizada	97.7	0.3	95.8	1.06	92.4	1.17

Según Gingrich *et al* (1971) existe una correlación directa entre el peso de larvas y el tamaño de adultos. Pastor y colaboradores (2011), señalan que el potencial de fecundidad y el tamaño corporal en los insectos están intrínsecamente relacionados, en donde hembras grandes ovipositan mayor cantidad en comparación a las de menor tamaño. Los autores señalan que, a mayor espacio abdominal, consecuentemente mayor cantidad de ovarios y huevos producidos.

En relación a los resultados obtenidos, la producción elevada de huevecillos está fuertemente influenciada por varios factores, uno de ellos es una alimentación a base de proteína de alta calidad (Pastor, *et al*, 2011), lo cual es congruente con lo presentado por Spradbery & Sands (1981), quienes señalan que en el caso de *Chrysomya bezziana* la cantidad de cuerpo graso larvario actúa como reservorio de proteína, lo cual influye

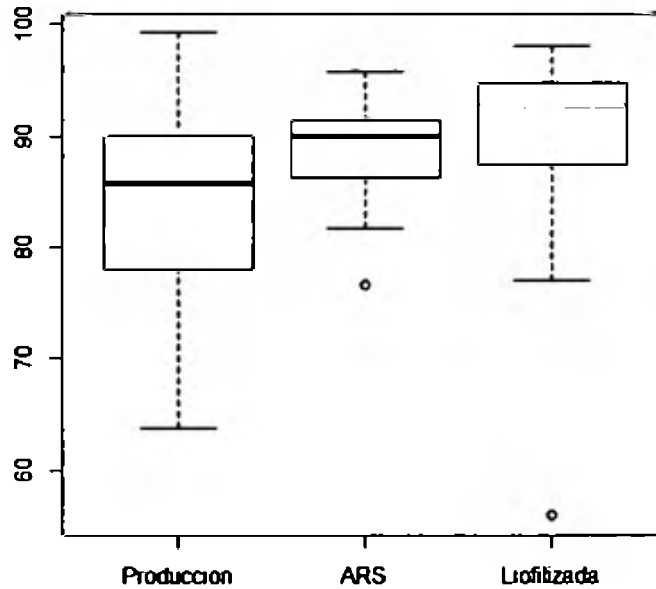
directamente sobre la maduración de los ovarios. Así mismo, Sagel y colaboradores (2002) señalan que los aminoácidos contenidos en la sangre tienen efectos positivos sobre la oogenésis de *Cochliomyia hominivorax*. Estos enunciados pudiesen estar relacionados a las larvas alimentadas con sangre liofilizada, ya que al tener mayor talla debido a la mayor cantidad de proteína (ver Figura No 2 y No 3) en la dieta (y de mejor calidad), obtuvieron mejores índices reproductivos (ver Gráficos No.6 y No.7).

Gráfico No.6: Oviposición



Por otro lado, machos más grandes tienen ventaja sobre machos de menor tamaño compitiendo por hembras silvestres (Alley & Hightower, 1966, Pitti, *et al* , 2011), lo cual es importante a considerar en programas de erradicación de insectos.

Gráfico No.7: Eclosión



Con respecto al peso de pupas, el porcentaje de sobrevivencia y fecundidad son parámetros mayormente afectados por la concentración de leche, huevo y sangre; siendo ésta última crítica en el desarrollo larval del GBG, ya que concentraciones mayores al 12% tendrán efecto negativo y disminuirán la cantidad de individuos producidos (Brown & Snow, 1979, Taylor, 1988) debido a algunas enzimas, tales como lipasas, lipo-oxigenasas, proteasas, catalasas y peroxidasas que pueden tener efectos adversos sobre la dieta (Cohen, 2015), lo cual pudiera tener relación con algunos valores obtenidos por la dieta control de ARS

5. CONCLUSIONES

El peso obtenido de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco no presentó diferencias

La talla obtenida de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada, sangre líquida y sangre deshidratada en seco no presentó diferencias estadísticas, aunque existe una tendencia en la que individuos alimentando con sangre liofilizada muestran una talla mayor

El volumen total obtenido de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada fue menor en comparación a la dieta de sangre líquida, no así con la dieta a base de sangre deshidratada en seco. Esta diferencia pudo deberse a la heterogeneidad mostrada por los individuos alimentados con la dieta a base de sangre liofilizada

El pH de las dietas a base de sangre liofilizada y sangre líquida no presenta diferencias estadísticas, mientras que ambas dietas sí presentan diferencia en relación a la dieta a base de sangre deshidratada en seco.

El porcentaje de emergencia obtenido de pupas de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada y sangre líquida no presenta diferencias estadísticas, mientras que ambas dietas sí presentan diferencia en relación a la dieta a base de sangre deshidratada en seco

El porcentaje de oviposición obtenido de unidades muestrales de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada y sangre deshidratada en seco no presenta diferencias. Por otro lado, ambas dietas sí presentan diferencias en comparación a la dieta a base de sangre líquida.

El porcentaje de eclosión de huevos de las unidades muestrales de *Cochliomyia hominivorax* alimentadas con dieta a base de sangre liofilizada y sangre líquida no presenta diferencias estadísticas, mientras que sí existe diferencia entre la dieta a base de sangre liofilizada y sangre deshidratada en seco

La utilización de fuentes de sangre no tradicional para la alimentación de larvas de *Cochliomyia hominivorax* ha demostrado su viabilidad en función de parámetros de desarrollo y reproductivos. En el caso de la sangre liofilizada, ésta ha demostrado mejores índices de talla, emergencia y eclosión en comparación a la dieta a base de sangre deshidratada en seco

6. RECOMENDACIONES

Realizar futuros estudios utilizando sangre liofilizada en lotes homogéneos para la elaboración de dieta enfocadas en el desarrollo y reproducción de *Cochliomyia hominivorax*

Evaluar la dieta a base de sangre liofilizada en unidades muestrales de *Cochliomyia hominivorax* de mayor volumen

7. BIBLIOGRAFÍA

Adams, TS & Reinecke, JP 1979 The Reproductive Physiology of the Screwworm *Cochliomyia hominivorax* (Diptera Calliphoridae) *Journal of Medical Entomology*. 15(5-6) 472-483

Alley, DA & Hightower, BG 1966 Mating Behavior of the Screw-Worm Fly as Affected by Differences in Strain and Size *Journal of Economic Entomology* 59(6) 1499-1502

Anziani, OS. 2006. Consideraciones sobre la epidemiología y el control de *Cochliomyia hominivorax* Resúmenes 1º jornada Nacional de Ectoparasitología Veterinaria. Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria, Universidad Nacional del nordeste Corrientes 5p

Barriga, O. 2002 Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos Editorial Germinal Santiago, Chile 247p

Berkebile, DR & Skoda, S 2002 Chemicals Useful for Separating Egg Masses of the Screwworm *SouthWestern Entomologist Scientific Note* 27(3/4) 297-299

Bowman, DD *et al.*, 2004. Georgis: Parasitología para veterinarios. 8va. ed. Editorial Elsevier Madrid, España. 440p.

Brown, HE & Snow, JW 1979 Screwworms (Diptera Calliphoridae) A New Liquid Medium for Rearing Screwworm Larvae *Journal of Medical Entomology* 16(1) 29-32

Caballero, M *et al* , 1996 Isolation and Identification of Bacteria Associated with the Screwworm Fly *Cochliomyia hominivorax*, Coquerel and Its Myiasis *Annals New York Academy of Sciences* 23(791) 248-254

Chaudhury, MF & Skoda, SR 2007 A Cellulose Fiber-Based Diet for Screwworm (Diptera Calliphoridae) Larvae. *Journal of Economic Entomology* 100(1) 241-245

Chaudhury, MF & Skoda, SR (2009) Diet pH, and Viscosity Affect Development and Survival of Screwworm Larvae (Diptera Calliphoridae) *Veterinary Entomology* 102(2) 709-803

Chaudhury, MF *et al* , 2011 Solidifying Agent and Processing of Blood Used for the Larval Diet Affect Screwworm (Diptera Calliphoridae) Life-History Parameters *Veterinary Entomology* 104(3):1103-1107.

Chaudhury, MF *et al* , 2012 Evaluation of Artificial Larval Rearing Media Waste as Oviposition Attractant for New World Screwworms (Diptera Calliphoridae) *Journal of Medical Entomology* 49(2):293-298

Chaudhury, MF. *et al* , 2015 Effects of New Dietary Ingredients Used in Artificial Diet for Screwworm Larvae (Diptera Calliphoridae) *Journal of Economic Entomology*. 22 1-6

Chen, H *et al* , 2014 Artificial diets used in mass production of the New World screwworm, *Cochliomyia hominivorax* *Journal of Applied Entomology* 708-714

Cohen, AC 2015 *Insects Diets Science and Technology* 2 ed Editorial Taylor & Francis Group Estados Unidos de América. 439p

De Araújo, T 2011. Metodología de produção de moscas estéreis de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae) no Brasil Tesis Doctorado. Universidad de São Paulo. 114p.

Eldridge, B. & Edman, JD 2004 *Medical Entomology A Textbook on Public Health and Veterinary Problems Caused by Arthropods* Editorial Springer, USA 639p

Florez, E & Wolff, M 2009. Descripción y Clave de los Estadios Inmaduros de las Principales Especies de Calliphoridae (Diptera) de Importancia Forense en Colombia *Neotropical Entomology* 38(3) 418-429

Forero, EG *et al* , 2007a. Aspectos económicos de la erradicación del gusano barrenador del ganado, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858), en Colombia *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia* 54 324-334

Forero, EG *et al* , 2007b. Ecología y epidemiología del Gusano Barrenador del Ganado, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) *Revista de Medicina Veterinaria*. 14.37-49.

Forero, EG *et al* , 2008 Problemática del Gusano Barrenador del Ganado, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858), en Colombia *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia* 13(2) 1400-1414

Forero, EG *et al* , 2009 Factores de riesgo asociados a la miasis por *Cochliomyia hominivorax* en fincas ganaderas de Puerto Boyacá (Colombia). *Revista Científica (Maracaibo)*. 19(5) 9p

Forero, EG. 2011. Miasis en salud pública y salud pública veterinaria. *Una Salud, Revista Sapuvet de Salud Pública* 2(2) 95-132

Galvin, TJ & Wyss, JH 1996 Screwworm Eradication Program in Central America *Annals New York Academy Sciences* 233-240

Gingrich, RE , *et al* 1971 Media Containing Liquefied Nutrients for Mass-Rearing Larvae of the Screw-Worm *Journal of Economic Entomology* 64(3) 678-683

Han, Y *et al* , 2005 Improved preservation of human red blood cells by lyophilization *Cryobiology* 51:152-164

Hightower, BG *et al* , 1971 Growth and Critical Size at Pupation for Larvae of the Screwworm Developing in Fresh Wounds *Journal of Economic Entomology* 65(5) 1349-1352

Hightower, BG *et al* , 1972 Relationship Between Weight of Mature Larvae, Size of Adults, and Mating Capability in Medium-Reared Male Screwworms *Journal of Economic Entomology* 65(5) 1527-1528

Islam, T *et al* 2015 Isolation and identification of associated bacteria and maggots from myiasis affected wounds of cattle and goats in Bangladesh *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 2(2) 95-100

Jianping, Y *et al* , 2004 Freeze-drying of Human Red Blood Cells Influence of Carbohydrates and Their Concentrations *Cell Preservation Technology* 2(4) 270-275

Kabayo, JP *et al* , 1988 Use of oven-dried blood for in vitro feeding of tsetse flies *Experientia* 802-803

Mastrangelo, T *et al.*, 2014 Dietas larvais alternativas para criação massal da mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax* *Ciência Rural, Santa Maria* 44(4) 672-677

Quan, GB *et al* , 2004 Effect of pre-freezing temperatura and lyophilizer shelf temperatur on recovery of red blood cells after lyophilization *Journal of experimental hematology / Chinese Association of Pathophysiology* 12(3) 368-371.

Quiroz Romero, H. 1990. Parasitología 4ta. ed. Editorial Limusa. México D.F., México. 876p

Pastor, B *et al* , 2011 Effect of the size of the pupae, adult diet, oviposition substrate and adult population density on egg production in *Musca domestica* (Diptera Muscidae) *European Journal of Entomology* 108:587-596

Pitti, A *et al* , 2011 Effect of Adult Screwworm Male Size on Mating Competence *Southwestern Entomologist* 36(1).47-60.

Reck, J *et al* , 2014 Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle? *Preventive Veterinary Medicine* 113:59-62

Riemann, JG 1965 The Development of Eggs of the Screw-Worm Fly *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera Calliphoridae) to the Blastoderm Stage as Seen in Whole-Mount Preparations *Biological Bulletin*. 129(2).329-339

Rindler, V. *et al.*, 1999 Freeze-Drying of Red Blood Cells at Ultra-Low Temperatures *Cryobiology* 38 2-15

Rory, A & Delaney, M 1974 The Nutritive Value of Porcine Blood Plasma Concentrates Prepared by Ultrafiltration and Spray Drying *Journal of the Science of Food and Agriculture* 26 303-310

Sagel, A *et al* 2002 The optimum Diet of Spray-Dried Animal Blood Cells as Protein Source for Adult Screwworms (Diptera:Calliphoridae) *Journal of Entomological Science* 37(4): 353-362

Sagel, A *et al* 2015 Managing Ammonia Emissions From Screwworm Larval Rearing Media *Journal of Economic Entomology* 109(1) 478-483

Scott, KL *et al* , 2005 Biopreservation of Red Blood Cells Past, Present, and Future *Transfusion Medicine Reviews* 19(2) 127-142

Somero, GN 1995 Proteins and Temperature *Annual Review of Physiology* 57 43-68

Sowewimo-Coker, SO *et al* , 1993 Refrigerated storage of lyophilized and rehydrated, lyophilized human red cells *Transfussion* 33(4) 322-329

Spargo, BJ *et al* , 1997 Freeze dried red blood cells Patente de los Estados Unidos de América. No. 5,690,963 7p

Spates, GE & Hightower, BG 1970 Variations in the Size and Reproductive Capacity of Wild-Type and Laboratory-Adapted Populations of the Screw-Worm Fly *Journal of Economic Entomology* 63(5) 1381-1385

Spradbery, JP & Sands, DPA. 1981 Larval Fat Body and It's Relationship to Protein Storage and Ovarian Development in Adults of The Screw-Worm *Chrysomya bezziana* *Entomologia experimentalis et applicata* 30 116-122

Subramanian, KS. *et al* , 1985. Hemolyzed, Lyophilized Bovine Blood for Quality Control of Lead Determination of Human Whole Blood *Bulletin of Enviromental Contamination and Toxicology*. 35 380-385

Taylor, DB 1988 Response of Screwworms (Diptera Calliphoridae) to Changes in the Concentration of Blood, Egg, and Milk in the Larval Diet *Journal of Economic Entomology* 81(2) 562-567

Teixeira, A *et al* , 2007 Myiasis associated with some socioeconomic factors in five urban areas of Rio de Janeiro *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 40(2) 175-180

Thomas, DB & Mangan, RL 1989 Oviposition and Wound-Visiting Behavior of the Screwworm Fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera. Calliphoridae). *Annals of the Entomological Society of America* 82(4) 526-534

Vargas-Terán, M *et al.*, 2005 Impact of Screwworm Eradication Programmes Using the Sterile Insect Technique: *Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management* Capítulo VII· 629-650

Wall, R & Shearer, D 2001 *Veterinary Ectoparasites. Biology, Pathology and Control* 2da ed Editorial Blackwell Science. Londres, Inglaterra 262p

Williams, RE 2010 *Veterinary Entomology Livestock and Companion Animals* Taylor & Francis Group Florida, Estados Unidos de América. 343p.



Wyss, JH & Galvin, TJ 1996. *Central America Regional Screwworm Eradication Program (Benefit/Cost Study)* United States Department of Agriculture 7p

ANEXOS

Figura No.1: Pupas alimentadas con sangre liofilizada



Figura No.2: Análisis de prueba físico-química de sangre liofilizada

	COMISIÓN PANAMA - ESTADOS UNIDOS PARA LA PREVENCIÓN Y ERRADICACIÓN DEL GUSANO BARRENADOR DEL GANADO (COPEG)	
	LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD	
	AREA DE MATERIA PRIMA	
	<i>ANÁLISIS DE PRUEBAS FISICOQUIMICAS</i>	

INFORME DE ENSAYO - Interno

Cliente: COPEG - ARS	Muestra 001 - 2016
Nombre Comercial: SANGRE LIOFILIZADA	Fecha de Ingreso de la Muestra a ARS 17-02-2016
Descripción de la muestra Partículas finas de color chocolate rojiza y partículas, homogéneas	Fecha de Ingreso de la Muestra al Laboratorio 17-02-2016
Proveedor ARS	Fecha de Terminación de Ensayo 03-03-2016
Lote 28042016	Fecha de Emisión de Informe 03-03-2016
Muestreado por Dr Agustín Sagel	Lugar de Muestreo Liofilizada en el Lab de ARS

Muestra - Especial - 001 – Sangre Liofilizada - 2016

Especificaciones Requeridas por COPEG	Resultados de Control de Calidad
% Solubilidad > 70	91,00
% Humedad < 8	4,81
% Cenizas < 4,5	4,5
pH (6,5 – 7,5)	8,53
% Proteína >85%	89,29
Grasas < 1%	2,69
Retención tamiz #70 < 5%	0,34
Polvos > 95%	99,66

Observación: Se utilizó los mismos rangos de referencia para el insumo sangre deshidratada en polvo que se obtiene por el método Spray Dry (Calor), como requisito de aceptación de la Comisión

Figura No.3: Análisis de prueba físico-química de sangre deshidratada en seco

Re-Muestreo de Sangre APC				
Ingreso de la muestra al Almacén	25-02-2013	23-11-2011	02-10-2012	15-06-2011
Fecha de la realización del análisis	27-06-2016			
Proveedor	APC			
Lotes	S218544	S111655	S10622	S110855
Pruebas Fisicoquímicas				
% Solubilidad > 70	64,38	64,66	53,62	50,62
% Humedad < 8	9,36	9,39	9,41	8,70
% Cenizas < 4,5	4,48	3,68	3,77	3,96
pH (6,5 –7,5)	7,48	7,43	7,43	7,41
% Proteína >85%	83,35	84,62	82,56	83,58
Grasas < 1%	0,79	0,59	0,54	0,74
Retención tamiz #70 < 5%	0,66	0,32	1,46	4,07
Polvos > 95%	99,34	99,68	98,54	95,93