



Eliminación de la oncocercosis en el Ecuador: estudio retrospectivo y situación actual.

Tesis Doctoral

Hugo Esteban Salazar Lozano

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

2023



Universidad de Salamanca

TESIS DOCTORAL

“Eliminación de la oncocercosis en el Ecuador:
estudio retrospectivo y situación actual”

Escuela de Doctorado “Studii Salamantini”

Programa de doctorado en Salud
y Desarrollo en los Trópicos

Hugo Esteban Salazar Lozano

2023

TESIS DOCTORAL POR COMPENDIO DE PUBLICACIONES

Se presenta este documento de Tesis Doctoral por compendio de publicaciones para optar al título de Doctor por la Universidad de Salamanca. Se aportan para su evaluación tres artículos científicos publicados. Los artículos científicos aquí recogidos han sido publicados en revistas científicas indexadas en *the American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.

1. Primer artículo de revisión:

Título: Use of Ov16-Based Serology for Post-Elimination Surveillance of Onchocerciasis in Ecuador

Revista: The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene

Año: 2020; 103(4):1569-1571 PMID: 32840200

Autores: Ángel Guevara, Esteban Salazar, Yosselin Vicuña, Hassan K. Hassan, Antonio Muro, Ronald Guderian, Philip J. Cooper, and Thomas R. Unnasch

Afiliaciones: Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Tropicales (e-INTRO), Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca–Centro de investigación en Enfermedades Tropicales de la Universidad de Salamanca (IBSAL–CIETUS), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, 37007, Salamanca, España.

DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0082>

2. Segundo artículo de revisión:

Título: Real-Time Polymerase Chain Reaction Method for the Detection of *Onchocerca volvulus* in Post-Elimination Surveillance of Onchocerciasis in Ecuador

Revista: The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene

Año: 2023, Publicado on line PMID: 37931298

Autores: Esteban Salazar, Diego Morales, Begona Febrer-Sendra, Pedro Fernandez-Soto, Julio Lopez-Aban, Paul Quinatoa, Angel Guevara, Antonio Muro

Afiliaciones: Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Tropicales (e-INTRO), Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca–Centro de investigación en Enfermedades Tropicales de la Universidad de Salamanca (IBSAL–CIETUS), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, 37007, Salamanca, España.

DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.23-0435>

3. Tercer artículo de revisión:

Título: Four decades of struggle to eliminate onchocerciasis from Ecuador

Revista: En revisión editorial

Año: 2023

Autores: Esteban Salazar, Julio López-Abán, Ana García-Mingo, Carlos Torres, Ángel Guevara, Antonio Muro

Afiliaciones: Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Tropicales (e- INTRO), Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca–Centro de investigación en Enfermedades Tropicales de la Universidad de Salamanca (IBSAL–CIETUS), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, 37007, Salamanca, España.

Estatus: En revisión para publicación.

Doctorando



Hugo Esteban Salazar Lozano
Salamanca, a 8 de noviembre de 2010

CERTIFICACIÓN

Prof. Dr. Antonio Muro Álvarez, Catedrático de Parasitología del Departamento de Biología Animal, Parasitología, Ecología, Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Salamanca, Prof. Dr. Julio López Abán, Profesor Titular del Departamento de Biología Animal, Parasitología, Ecología, Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Salamanca y Prof. Dr. Ángel Gustavo Guevara Espinoza, Investigador Principal del Instituto de Biomedicina, Profesor Titular de Biología Molecular en la Carrera de Medicina, Universidad Central, Quito, Ecuador.

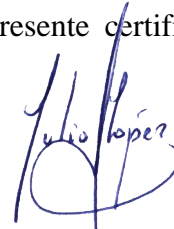
Certifican:

que la Tesis Doctoral titulada “Eliminación de la oncocercosis en el Ecuador: estudio retrospectivo y situación actual”, que presenta para optar al grado de Doctor por la Universidad de Salamanca en la modalidad de tesis por compendio de publicaciones, ha sido realizada por Hugo Esteban Salazar Lozano, con CC. No. 1002039574, bajo nuestra dirección en el Instituto de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador y el Departamento de Biología Animal, Parasitología, Ecología, Edafología y Química Agrícola de la Universidad de Salamanca y en el Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Universidad de Salamanca dentro del programa de doctorado Salud y Desarrollo en los Trópicos. Reúne a nuestro juicio, originalidad y contenidos suficientes, por lo que autorizamos su presentación para ser evaluada.

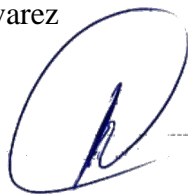
Y para que así conste, a efectos legales, expide el presente certificado en Salamanca a 8 de noviembre de 2023



Fdo. Dr. Antonio Muro Álvarez



Fdo. Dr. Julio López Abán



Fdo. Dr. Ángel Gustavo Guevara Espinoza

¡A. Dedicatoria!

*“Para investigar la verdad es preciso
dudar, en cuanto sea posible,
de todas las cosas”
René Descartes*

*A mi madre,
hermanos,
esposa e
hijos.*

¡B. Agradecimientos!

Mi primer y más sincero agradecimiento va dirigido a mis directores, Antonio Muro Álvarez, Ángel Gustavo Guevara Espinoza, por vuestro apoyo, las enseñanzas, la dedicación, la confianza, el tiempo invertido y a Julio López Abán por su paciencia, grandes ideas, que vinieron acompañadas de trabajo y satisfacciones para que esta Tesis Doctoral llegara a buen puerto.

En segundo lugar, quería dar un reconocimiento a la Universidad de Salamanca, al Instituto de Investigación Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública en Quito (INSPI), Programa Nacional de Eliminación de la Oncocercosis del Ministerio de Salud del Ecuador PNEO/MSP, Centro de Epidemiología Comunitaria y Medicina Tropical, (CECOMET), Esmeraldas, Comunidades del río Cayapas y especial al Instituto de Salud Carlos III, ISCIII, España, que han retribuido mi trabajo con la cofinanciación en logística y publicaciones.

Mi gratitud más profunda se la hago llegar también a todos profesionales del IBSAL-CIETUS, y en especial a Belén Vicente por la ayuda para que las muestras llegaran al laboratorio. Igualmente, no me puedo olvidar de la Asociación Amigos del Cayapas que me aceptó entre los suyos y me permitió vivir una experiencia profesional y personal, en la Reserva de Cayapas, Ecuador.

En el ámbito personal, quería darle las gracias a mi madre, María Erlinda Ercida Lozano que, con sus años, cada vez se vuelve más sabia para guiarnos por el bien y multiplicar saberes a sus hijos, nietos y viznietos. A mis hijos Milena, Alexei, Sarahí y Keylor, que me han transmitido luz en este caminar durante este periodo y poder llegar a la meta.

A mi gran familia, a los que están y a los que ya se fueron. A mi compañera de vida Narciza, por su inquebrantable apoyo, mis hermanos Amalia, Patricio, Joselo, Bayardo, Wilson, Wilmer, Zulema, mis sobrinos, que creyeron conmigo en la responsabilidad de investigar y de divulgar, y toda una larga lista que les sigue.

A todos ¡Gracias!

ÍNDICE

RESUMEN	16
SUMMARY	18
CAPÍTULO I: Introducción	21
1.1 Contexto.....	23
1.2 Oncocercosis.....	24
1.2.1 Agente etiológico.....	25
1.2.2 Ciclo biológico.....	27
1.2.3 Epidemiología.....	28
1.3 Mecanismos de enfermedad.....	30
1.3.1 Manifestaciones clínicas.....	31
1.3.1.1 Lesiones dérmicas.....	31
1.3.1.2 Linfadenitis: adenolinfocele y elefantiasis asociada.....	34
1.3.1.3 Discapacidad Visual, Ceguera de los ríos.....	34
1.3.2 Diagnóstico.....	34
1.3.2.1 Diagnóstico inmunológico y molecular.....	35
1.4 Tratamiento de la oncocercosis.....	36
1.4.1 Principios activos utilizados en oncocercosis.....	36
1.5 Tratamiento de la oncocercosis clínica.....	37
1.6 Control y prevención de la oncocercosis	37
1.6.1 Intervenciones comunitarias en salud.....	38
1.6.2 Control del contacto con el vector.....	38
1.6.3 Aplicación de ivermectina en masa.....	39
CAPITULO II: Hipótesis y Objetivos	46
2.1 Hipótesis	48
2.2. Objetivos.....	48
CAPÍTULO III: Artículos de investigación	51
CAPÍTULO IV: Discusión	99
CAPÍTULO V: Conclusiones.....	105

RESUMEN

La oncocercosis es una enfermedad parasitaria causada por la filaria *Onchocerca volvulus*. Es transmitida por un artrópodo del género *Simulium*, y causa lesiones cutáneas y oculares que pueden llegar a la ceguera. La aplicación de medidas de control se ha sucedido a lo largo del siglo XX, pero fue con el tratamiento sistemático y masivo de ivermectina como se ha conseguido eliminarla del Ecuador. En el caso del Ecuador tras 19 años de tratamiento masivo de ivermectina y cinco de vigilancia epidemiológica, se consiguió certificar la eliminación. En esta situación se planteó la necesidad de monitorear la posible reemergencia de la enfermedad post-eliminación. El objetivo de esta tesis es evaluar los riesgos de la reemergencia de la oncocercosis post-eliminación mediante estudios serológicos en muestras de niños de zonas endémicas de las provincias de Esmeraldas y Santo Domingo de los Tsáchilas y estudios sobre muestras de *Simulium exiguum* en las comunidades centinelas seleccionadas del área que fuera el foco endémico de oncocercosis. Por último, se aborda un estudio retrospectivo de las estrategias de control y situación actual de la enfermedad junto con una estimación del riesgo de difusión por medio de la emigración de la zona endémica. Se analizaron 123 muestras de suero de niños menores de 10 años nacidos después de la suspensión del tratamiento de ivermectina, mediante la técnica ELISA con el antígeno Ov66. Después se estudiaron un total de 2950 *S. exiguum* adultos recolectados en las áreas endémicas de oncocercosis, para ser procesados por PCR cuantitativa. También se realizó una revisión histórica de las estrategias de control y migración poblacional. Para ello, se monitorearon un total de 119 comunidades endémicas de oncocercosis, que abarcaban una población de 1.085.921 personas. Durante el periodo 1985-2009, el Programa Nacional de Eliminación de la Oncocercosis (PNEO) estima que han migrado 18.979 personas, cuando la enfermedad aún era endémica en el Ecuador. También se realizó un estudio sobre registros de los casos confirmados de oncocercosis, estrategias de control y población migratoria del Ministerio de Salud Pública (MSP), del PNEO y del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC). No se encontraron anticuerpos contra el parásito en ninguna de las muestras de suero y tampoco se amplificó ADN del parásito *S. exiguum* en las comunidades centinelas últimas en denunciar casos de oncocercosis en la provincia de Esmeraldas. Con los datos históricos analizados sobre las estrategias de control de la oncocercosis en el Ecuador se observa que la aplicación de ivermectina cobertura mayor de 85%. El estudio de migración muestra riesgo bajo

de oncocercosis por los tratamientos de ivermectina y la carencia de vectores apropiados del parásito en la zona de acogida. En conclusión, los estudios realizados en este trabajo con vistas al control de la oncocercosis en Ecuador muestran la ausencia de casos tanto en población humana como en vectores transmisores del parásito. El estudio retrospectivo determina que la aplicación de la ivermectina junto con medidas de intervención comunitaria han sido efectivas en la eliminación de la enfermedad.

SUMMARY

Onchocerciasis is a parasitic disease caused by the filarial disease *Onchocerca volvulus*. It is transmitted by an arthropod of the genus *Simulium*, and causes skin and eye lesions that can lead to blindness. Control measures have been applied throughout the 20th century, but it was with the systematic and massive treatment of ivermectin that it has been eliminated from Ecuador. In the case of Ecuador, after 19 years of massive ivermectin treatment and five years of epidemiological surveillance, elimination was certified. In this situation, the need to monitor the possible reemergence of the disease post-elimination arose. The objective of this thesis is to evaluate the risks of onchocerciasis reemergence post-elimination through serological studies in samples of children from endemic areas of the provinces of Esmeraldas and Santo Domingo de los Tsáchilas and studies on samples of *Simulium exiguum* in sentinel communities selected from the area that was the endemic focus of onchocerciasis. Finally, a retrospective study of the control strategies and current status of the disease is addressed along with an estimation of the risk of spread through emigration from the endemic area. A total of 123 serum samples from children under 10 years of age born after discontinuation of ivermectin treatment were analyzed by ELISA with the Ov66 antigen. A total of 2950 adult *S. exiguum* collected in onchocerciasis endemic areas were then studied and processed by quantitative PCR. A historical review of control strategies and population migration was also carried out. For this purpose, a total of 119 onchocerciasis endemic communities were monitored, covering a population of 1.085.921 people. During the period 1985-2009, the National Program for the Elimination of Onchocerciasis (PNEO) estimates that 18.979 people migrated when the disease was still endemic in Ecuador. A study was also conducted on records of confirmed cases of onchocerciasis, control strategies and migratory population of the Ministry of Public Health (MSP), the PNEO and the National Institute of Statistics and Census (INEC). No antibodies against the parasite were found in any of the serum samples and no *S. exiguum* parasite DNA was amplified in the sentinel communities that last reported cases of onchocerciasis in the province of Esmeraldas. The historical data analyzed on onchocerciasis control strategies in Ecuador show that the application of ivermectin coverage is greater than 85%. The migration study shows a low risk of onchocerciasis due to the ivermectin treatments and the lack of appropriate vectors of the parasite in the host area.

In conclusion, the studies carried out in this work with a view to controlling onchocerciasis in Ecuador show the absence of cases both in the human population and in vectors transmitting the parasite. The retrospective study determines that the application of ivermectin together with community intervention measures have been effective in eliminating the disease.

CAPÍTULO I:

Introducción

1.1 Contexto

La OMS denomina "Enfermedades Tropicales Desatendidas", más conocidas en inglés como "Neglected Tropical Diseases (NTDs)" a aquellas cuya mayor prevalencia se encuentra en países tropicales y en desarrollo de África, Asia, y América. Desde una perspectiva global, se han priorizado 17 enfermedades causadas por patógenos, como virus: dengue, rabia; bacterias: lepra, úlcera de Buruli, tracoma, pian; protozoos: enfermedad de Chagas, tripanosomiasis humana africana o enfermedad del sueño, leishmaniosis; y, helmintos: cisticercosis/teniosis, dracunculosis, equinococosis quística, trematodosis de transmisión alimentaria, filariosis linfática, esquistosomosis, helmintosis transmitidas por el suelo. A este grupo pertenece la oncocercosis, una enfermedad parasitaria producida por el nemátodo filárico *Onchocerca volvulus* (Molyneux et al., 2005; OPS, 2011; Dick et al., 1952).

El parásito, *O. volvulus*, es una de las ocho especies de filarias que infectan al ser humano y es transmitida por insectos dípteros hematófagos del género *Simulium*. La mayoría de los casos de oncocercosis, más del 99%, se presentan en el África subsahariana, pero también hay focos en América y Yemen (Lakwo et al., 2020). Los primeros casos de oncocercosis fueron descritos en 1893 por Leuckart en Ghana y en 1915 por Rodolfo Robles en Guatemala (Zimmerman et al., 1994; Shelley et al., 1985; Vieira et al., 2007). En la actualidad, la oncocercosis es endémica en ocho provincias del oeste de Yemen, especialmente en 33 distritos situados a lo largo de valles fluviales o cauces secos que desembocan en el Mar Rojo (Lakwo et al., 2020; Guderian et al., 2018). En 1980, Carvajal y Zerega describieron la enfermedad en un paciente indígena de la comunidad El Tigre, en la zona del río Cayapas, provincia de Esmeraldas, Ecuador.

El Programa de Control de la Oncocercosis (OCP) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), establecido en 1974, tuvo un impacto significativo en el control de la enfermedad. El programa evitó que 40 millones de personas se infectaran, previno la ceguera en 600.000 personas y garantizó que 18 millones de niños nacieran libres de la amenaza de padecer ceguera (Nikièma et al., 2018). Por otro lado, el Programa de Eliminación de la oncocercosis para América (OEPA) ha logrado un enorme éxito en la eliminación de la transmisión de la oncocercosis en cuatro países: Colombia (2013), Ecuador (2014), México (2015) y Guatemala (2016). Sin embargo,

el programa OEPA se enfrenta a complejos desafíos al tratar con la población yanomami que vive en la selva tropical de las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco. Esta población es muy móvil, reside en zonas de difícil acceso y está expuesta a un alto riesgo de infección por oncocercosis. Abordar este problema requiere un esfuerzo colaborativo de Brasil y Venezuela, ya que las tierras altas de la selva tropical se encuentran en ambos países (Nikièma et al., 2018; Villar, 2011).

El Ecuador en cumplimiento a los planes regionales por medio del Programa para la Eliminación de la Oncocercosis del Ecuador (PNEO) se declara libre de oncocercosis en 2014. Esto incluye definir un límite superior aceptable para la transmisión en áreas en las que se cree que la transmisión se ha suprimido y desarrollar estrategias para llevar a cabo la vigilancia de un potencial recrudecimiento de la infección en áreas en las que se cree que la transmisión está interrumpida (Rodríguez et al., 2011). Sin duda, la oncocercosis, es una enfermedad tropical desatendida que constituye un importante y grave problema de salud pública en las comunidades afectadas. Los dos grandes programas que han liderado la estrategia de control y eliminación en el mundo son: Programa Africano de Control de Oncocercosis (APOC) y el Programa para la Eliminación de la Oncocercosis en América (OEPA). Ecuador es parte de la iniciativa regional propuesta en 1991. El Ecuador adoptó la política de tratamientos con ivermectina anuales o semianuales con el fin de eliminar la morbilidad por oncocercosis (OPS/OMS, 1991; Blanks et al., 1998). Como consecuencia de este trabajo coordinado entre comunidad, personal sanitario y autoridades de salud local e internacional, el Ecuador alcanzó la eliminación de la transmisión. Inmediatamente se inicio la vigilancia epidemiológica durante los años 2010-2012. En 2014 la OMS hace oficial la eliminación de la oncocercosis en el Ecuador.

1.2 Oncocercosis.

La oncocercosis es una NTD causada por el parásito nemátodo *O. volvulus*, se transmite al ser humano por la picadura del vector hembra de la mosca negra del género *Simulium*. La enfermedad también se conoce comúnmente como "ceguera de los ríos", pues está asociada a los lugares de cría del vector a la orilla de ríos o arroyos de corrientes rápidas y la manifestación más devastadora de la infección es la ceguera (Katarwa et al., 2020; Guderian et al., 2018). La oncocercosis es endémica en 31

países del África Subsahariana: Angola, Benin, Burkina Faso, Burundi, Camerún, Chad, Costa de Marfil, Etiopía, Gabón, Ghana, Guinea, Guinea-Bissau, Guinea Ecuatorial, Kenia, Liberia, Malawi, Malí, Mozambique, Níger, Nigeria, República Centroafricana, República del Congo, República Democrática del Congo, República Unida de Tanzania, Ruanda, Senegal, Sierra Leona, Sudán, Sudán del Sur, Togo y Uganda. También se halla presente en América en Brasil, Colombia, México, Guatemala, Ecuador y Venezuela donde fue introducida por el tráfico de esclavos (OMS, 2022).

1.2.1 Agente etiológico.

Onchocerca volvulus es una especie de nematodo que, en estado adulto, habita en el tejido conjuntivo subcutáneo de la piel; por lo general forman marañas encapsuladas, donde puede haber más de una pareja de parásitos. A diferencia de las microfilarias de otras filarias linfáticas que infectan a personas como; *Wuchereria bancrofti*, *Brugia timori*, *Loa loa*, las de *O. volvulus* carecen de vaina, poro excretor y núcleos en el extremo caudal. Algunos datos clínicos, bioquímicos, genéticos y de otra índole hacen pensar en la presencia de varias cepas de *O. volvulus* que causan grados diferentes de enfermedad. Por ejemplo, el padecimiento ocular es menos grave en la zona biogeográfica de la selva que en la sabana africana. Los dípteros *Simulium damnosum* en África, *S. ochraceum* en Centroamérica, *S. metallicum*, *S. exiguum* y *S. guianense* en Suramérica son las especies que transmiten la enfermedad. Estos insectos tienen desarrollo holometábolo, es decir, hay huevos, larvas y pupas con hábitat acuático y adultos que vuelan (Priego et al., 2014).

En relación con los vectores, los simúlidos pertenecen al Orden Díptera, Suborden Nematóceras y a la Familia Simuliidae. En el campo médico, *Simulium* es el género más importante de las moscas negras y es el vector de *O. volvulus*. En África, el complejo de especies de *S. damnosum sensu lato (s. l.)* con 60 citoformas, es el vector responsable de aproximadamente 95% de los casos, mientras que el grupo *S. neavei s. l.* y *S. arbirgulatum s. l.* es responsable de un número más limitado de casos. En México y Guatemala, *S. ochraceum* es el vector principal, y *S. metallicum* es vector secundario. En Colombia y Ecuador el vector principal es *S. exiguum s. l.*, mientras que en Venezuela son *S. metallicum s. l.* y *S. guianense s. l.* Este último es también vector en Brasil. Los simúlidos son moscas frágiles con patas y antenas largas y venación reducida. Tienen longitud de entre 3 y 6 mm, protórax grande y

convexo, cabeza inclinada hacia abajo con las antenas cortas, rectas, con siete a nueve segmentos en el flagelo y presentan un pedicelo grande. Las moscas del género *Simulium*, son dípteros de cuerpo compacto (1-5 mm) con forma característica: tórax arqueado corto, cuya coloración depende de la especie. Poseen un par de alas acompañadas de un par de pequeñas protuberancias conocidas como elaterios. Tienen patas con cinco artejos y poseen piezas bucales cortas adaptadas para la succión de sangre. Las hembras adultas son hematófagas y vectores de virus, protozoos y helmintos; muestran actividad alimenticia durante las horas luz, pero las picaduras son más frecuentes en las primeras horas de la mañana (Rodríguez et al., 2010).

Hay 1550 especies descritas. Su nombre común en español es mosca negra, jején o mosca alazán, juro en el área endémica del Ecuador (Crosskey, 1990). La hembra, para obtener la sangre, corta la epidermis con sus piezas bucales, punzantes y cortantes. Además, la hembra ataca ferozmente en lugares abiertos, pero no dentro de las casas. Evita la luz y pica sobre todo a primera hora de la mañana o al atardecer. Puede atacar a cualquier hora del día o cuando el cielo está nublado. El hábitat típico de reproducción de todas las especies del género *Simulium* son los arroyos con agua bien aireada. La hembra pone sus huevos en masas de 300-500, en las orillas del agua en la vegetación como enredaderas. A veces son atraídas a un área particular de la corriente para la oviposición, dando como resultado una gran concentración de larvas en un área muy reducida. Los huevos se incuban en 4-12 horas y las larvas que surgen se adhieren a las ramas o rocas por medio de una ventosa posterior. Las larvas se alimentan por medio una estructura con forma de abanico situado cerca de las partes bucales, las cuales atrapan el alimento que pasa en el agua. Existen 6 a 8 estadios larvarios que se extienden entre 7 y 14 días. La fase de crisálida dura entre 2-6 días. Luego la mosca adulta emerge a la superficie del agua en una burbuja de aire protector. El ciclo vital completo dura entre 2 y 3 semanas. Los adultos son fuertes y pueden volar distancias considerables desde los lugares de procreación en busca de alimento (Collins et al., 1993).

Los estudios cromosómicos de los simúlidos han permitido clasificarlos en varios genotipos, formando un complejo de especies hermanas. Se ha encontrado que estos difieren en su comportamiento y preferencias alimentarias en distintos hospedadores, que afecta a su importancia como vectores en la oncocercosis humana. El factor más importante que influye en la propagación del contagio entre personas

de la infección por *O. volvulus* es la densidad *Simulium*. También influye el número de moscas infectadas, la concentración de larvas infectivas en estas moscas, la longevidad de la hembra; las variaciones climáticas y de la distancia de los lugares de cría con relación a los lugares residenciales (Yaméogo et al., 1999).

1.2.2 Ciclo biológico.

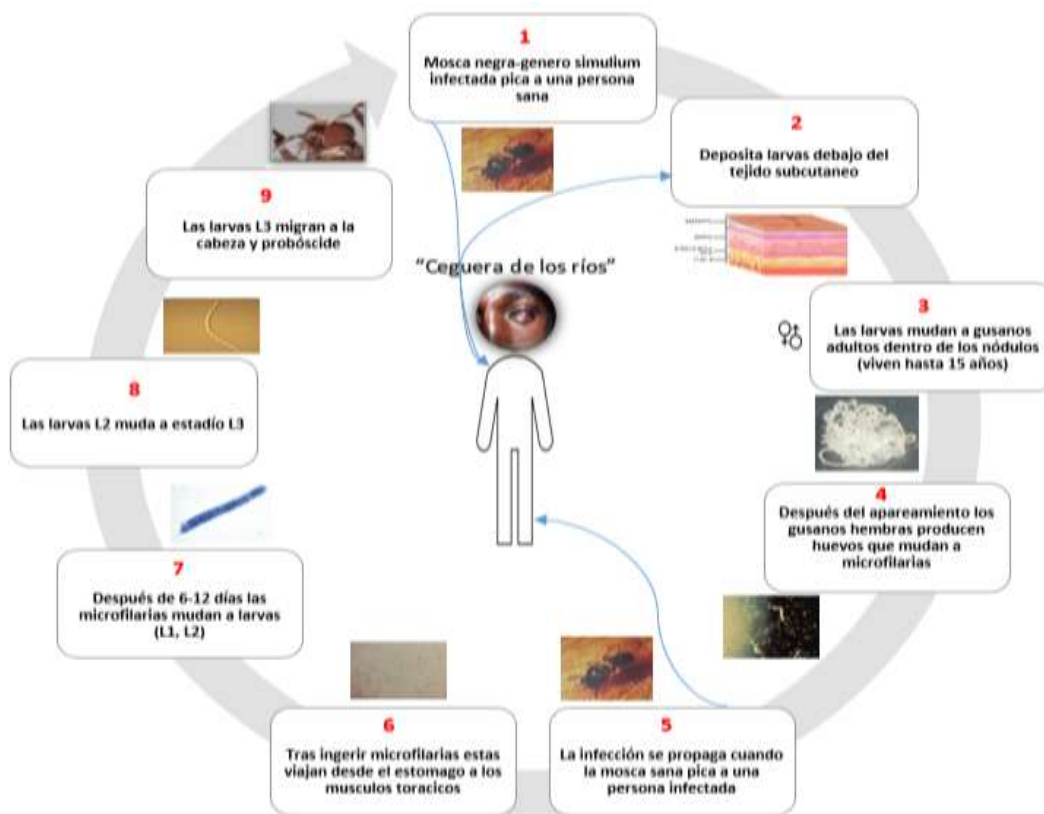


Figura 1. Ciclo biológico de *Onchocerca volvulus*

La mosca negra hembra infectada, mientras pica e ingiere sangre introduce las larvas infectantes de tercer estadio (L3) en la piel del hospedador humano. En el tejido conjuntivo subcutáneo, las L3 se desarrollan, mudan y llegan a adultos, que se encuentran en el interior de los nódulos del tejido subcutáneo. Los parásitos adultos pueden vivir en los nódulos hasta 15 años. En algunos nódulos se puede encontrar numerosos adultos machos y hembras. Las hembras miden de 33 a 50 cm de longitud y 270-400 μm de diámetro, mientras que los machos miden 19 a 42 mm por 130-210 μm . En los nódulos subcutáneos, las hembras adultas son capaces de producir microfilarias hasta por 15 años. Las microfilarias no tienen cubierta, pueden llegar a medir entre 220-360 μm por 5 a 9 μm de diámetro y tienen una vida media de dos años. Las microfilarias se encuentran mayoritariamente en la piel y también los vasos

linfáticos de los tejidos conectivos pudiendo alcanzar al ojo. La caracterización molecular de *O. volvulus* refiere que su genoma consiste de 97 millones de pares de bases con una predicción de 12.143 genes codificadores de proteínas en base a estudios de secuenciación de ARN de las ocho etapas del ciclo de vida del parásito (Cotton et al., 2017). La hembra de simúlido puede ingerir las microfilarias durante la alimentación con sangre. Las microfilarias migran desde el intestino medio, atraviesan el hemocele y llegan a los músculos torácicos. Allí las microfilarias se convierten en larvas de segundo estadio y, posteriormente, en larvas infectantes de tercer estadio (L3). Las L3 migran a la probóscide, quedando en condiciones de infectar a otros seres humanos, en la siguiente alimentación (CDC, 2017) (Guderian et al., 2018).

Los productos excretores-secretorios de los nematodos y otros helmintos son las primeras moléculas en interactuar con las superficies celulares y las proteínas solubles dentro del hospedador. Como resultado, la interacción de los productos excreción-secretión de *O. volvulus* con la piel y el sistema inmunitario a menudo genera respuestas, incluida la producción de anticuerpos (Djafsia et al., 2018).

1.2.3 Epidemiología.

La oncocercosis se clasifica como una NTD que está muy extendida en el África subsahariana donde es endémica en 19 países africanos. Hay algunos focos en el Yemen y en la selva amazónica. La enfermedad se caracteriza principalmente por irritaciones de la piel y lesiones oculares y en última instancia, puede conducir a la ceguera. Se ha estimado que 37 millones de personas están infectadas y 86 millones de personas viven en áreas de alto riesgo de oncocercosis (OMS, 2011; Kalmobe et al., 2017). La oncocercosis es responsable de unos 270.000 casos de ceguera y casi 99% de los 37 millones de infectados vive en África, mientras que el resto habita la Península Arábiga y América (Ríos et al., 2013; Freeland, 2009; Winthrop et al., 2011; Rodríguez-Pérez et al., 2010; Osei-Atweneboana et al., 2011). La enfermedad es muy prevalente en 11 países subsaharianos, especialmente Ghana, Nigeria, Liberia y Malí, y en el Yemen y Omán en la Península Arábiga. Se considera que la enfermedad llegó a América con la introducción de esclavos africanos (Shelley, 2002; Ríos et al., 2013). Se denunciaron focos endémicos en Brasil, Venezuela, Ecuador, Colombia, Guatemala y México, con un cálculo de aproximadamente 500 mil personas en riesgo de adquirir la enfermedad (Ríos et al., 2013; Freeland, 2009; Shelley, 2002).

En el Ecuador, las evidencias documentales oficiales describen que el primer caso de oncocercosis fue descubierto en marzo de 1980 en un paciente de 70 años, afrodescendiente, proveniente de la comunidad el Tigre, Río Cayapas, Cantón Eloy Alfaro, provincia de Esmeraldas, hospitalizado en el Hospital General “Luis Vernaza” de la ciudad de Guayaquil por otra enfermedad. Al examen físico se detectó un nódulo subcutáneo sospechoso que fue extirpado quirúrgicamente. En el estudio histológico se observó un verme redondo, se identificó el nódulo como oncocercoma y al helminto que estaba en su interior como *O. volvulus*. Sobre la base de este reporte, se realizó una reunión sobre oncocercosis en el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Izquieta Pérez” de Guayaquil con la participación de varias instituciones públicas ecuatorianas (Ministerio de Salud Pública, Bienestar Social, Departamento de Artropozoonosis, Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Izquieta Pérez” de Guayaquil-hoy INSPI, Servicio Nacional de Erradicación de la Malaria. También participaron instituciones privadas: Departamento de Desarrollo Comunitario, Hospital Vozandes-Quito, el Vicariato Apostólico de Esmeraldas, y universidades como la Universidad Estatal de Guayaquil, y la Universidad Técnica de Esmeraldas. Después de discutir detalladamente el caso, se declaró imperativo realizar una evaluación epidemiológica en la zona de la procedencia del caso. El fin fue de determinar si existía un foco de oncocercosis en la provincia de Esmeraldas o si el caso descrito solamente representaba un hecho aislado importado a la zona. Con los acuerdos alcanzados se realizó la primera evaluación epidemiológica de la zona en la que se constituyeron tres grupos geográficos específicos: i) Localidades en los márgenes del río Cayapas: Zapallo Grande, San Miguel, Mafua, Guadual, Loma Lina, Hoja Blanca. ii) Localidades en los márgenes del río Santiago: Playa de Oro, Playa del Tigre, Selva Alegre. iii) Localidades en los márgenes del río Ónzole como Santo Domingo de los Tsáchilas. Estos tres ríos pertenecen a la cuenca del Río Santiago, en la zona noreste de la provincia de Esmeraldas. En todas las comunidades evaluadas, se detectaron personas positivas para oncocercosis, del total de 568 examinados el 67% de las personas fueron positivas para oncocercosis. En 1981 estos resultados fueron presentados y analizados en el “Simposio de Oncocercosis en el Ecuador” como parte del IV Congreso Latinoamericano de Patología Clínica realizado en la ciudad de Guayaquil. También, en el mismo año, se informaron los casos de oncocercosis en Ecuador a nivel internacional en el Congreso conjunto de Guatemala-Japón por

representantes del Ministerio de Salud Pública, INSPI y asesores de la OPS. Como consecuencia de los resultados obtenidos, se postuló que la cuenca del río Santiago era un foco endémico para la oncocercosis. Luego de confirmar la existencia del foco endémico de oncocercosis, se recomendó a las autoridades del Ministerio de Salud Pública poner a disposición la asistencia técnica y los recursos económicos. El fin era implementar y ejecutar un programa de control y continuar con las evaluaciones epidemiológicas en profundidad para definir la extensión del foco endémicos ecuatoriano y definir la prevalencia de infección (Guderían et al., 2018).

1.3 Mecanismos de enfermedad

La patogénesis de *O. volvulus* está directamente relacionada con la presencia y destrucción de las microfilarias de este nematodo filarial en los tejidos. Las presentaciones clínicas de los enfermos infectados están relacionadas con la intensidad de las reacciones contra el parásito. También se cree que los fármacos microfilaricidas implican de algún modo al sistema inmunitario en su modo de acción, es decir que las manifestaciones de las infecciones por *O. volvulus* no sólo son consecuencia del parásito, sino también de la magnitud y la calidad de las respuestas inmunitarias del hospedador (Magdi, 2006). Dentro de las principales manifestaciones de la enfermedad se encuentran las lesiones de la piel, que pueden ser leves o muy graves; formación de nódulos. Además se presentan alteraciones oculares que pueden llegar a la ceguera (Hoerauf et al., 2003). Además, las manifestaciones clínicas también se relacionan con las toxinas liberadas por la bacteria endosimbiótica *Wolbachia* spp, (Gillette-Ferguson et al., 2006). También se observa gran variación en el patrón clínico de la oncocercosis en relación con la cepa del parásito (Murdoch et al., 1993; Zimmerman et al., 1992). Los nódulos, también conocidos como oncocercomas u oncocercomatas, son masas fibrosas subcutáneas. Dentro de ellos se encuentran encapsulados los gusanos adultos. Su tamaño oscila entre 0,5 y 10 cm. Parece que se producen como respuesta inflamatoria del hospedador a las proteínas del verme que inducen la infiltración perivascular de leucocitos y la estimulación de fibroblastos (García-Dihinx et al., 2001; Okulicz et al., 2004). Los primeros cambios en la piel incluyen pequeñas lesiones sólidas y elevadas que causan prurito y que se conocen como pápulas. En individuos de México y Guatemala, la despigmentación es ligera y se conoce como erisipela de la costa o mal morado (Hoerauf et al., 2003; Kipp et al., 2002; Rodríguez et al., 2010). La lesión crónica de la piel le confiere al individuo una apariencia de edad avanzada. Aparecen arrugas exageradas en

la piel, hay atrofia de la epidermis, la piel se hace extremadamente delgada, colgante y brillante. También hay despigmentación que recuerda a la piel de leopardo y a veces liquenificación (Kipp et al, 2002). En algunos casos se produce una inflamación de la piel con prurito muy intenso conocida como sowda (“negro”, en árabe), debido a la fuerte respuesta inmunitaria de anticuerpos del tipo IgG (Bratig, 1994; Rodríguez, 2010). Los eosinófilos desempeñan el papel principal en la respuesta inmunitaria contra parásitos, pero también son causa del daño en la piel. Las proteínas derivadas de estos se depositan en el tejido conectivo a través de la dermis y se adhieren a las fibras elásticas. Aun cuando los eosinófilos ya no se encuentren en los tejidos, sus proteínas todavía se encuentran en el tejido conectivo y en circulación sanguínea (Ackerman et al., 1990; Rodríguez et al., 2010). Cuando la filaria migra al ojo, causa una respuesta inmunitaria inflamatoria intensa y, según el grado de gravedad, puede destruir por completo el nervio óptico causando ceguera total (Luang-Hu, 2020). La reacción cruzada entre los antígenos del parásito y proteínas presentes en la retina humana podrían contribuir al desarrollo el daño ocular (Braun et al., 1991; Hall et al., 1999; Rodríguez et al., 2010).

1.3.1 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas de la oncocercosis en general son similares en todos los países en donde se encuentra la enfermedad, aunque existen algunas variaciones de acuerdo con la estirpe de oncocerca. En el Ecuador, las principales manifestaciones clínicas de oncocercosis fueron dermatitis, linfadenitis, oncocercomas y discapacidad visual:

1.3.1.1 Lesiones dérmicas

La oncodermatitis, en el inicio de una infección, se encuentra las microfilarias en la dermis, especialmente en la dermis superior. La primera etapa de oncodermatitis comienza con el desarrollo de prurito que podría estar acompañada por excoriaciones y una erupción máculopapular eritematosa y a veces urticaria. Las pápulas se deben a los microabscesos formados por degradación de las microfilarias. La reacción inflamatoria que rodea las microfilarias en degeneración se compone de eosinófilos, neutrófilos, y macrófagos. El tejido dérmico entre estas lesiones focales no muestra ningún cambio. Frecuentemente, una combinación de las pápulas, máculas y edema existen en la misma persona. En muchas personas el prurito persistía a lo largo de todo el curso de la enfermedad. Debido al rascado por el prurito intenso asociado, se

resulta en una infección secundaria conocido como *craw-craw*. Una complicación de esta etapa temprana de la infección es la condición de despigmentación macular, que consiste en manchas hiperpigmentadas con centros despigmentados. La segunda etapa de oncodermatitis se caracteriza por el engrosamiento de la piel debido a edema intradérmico. Los ganglios linfáticos inguinales a menudo podrían inflamarse. En la infección oncocercótica persistente, se podría desarrollar un grado de liquenificación o engrosamiento de la piel debido a la fibrosis subcutánea, especialmente en glúteos y muslos. También se asocia con hiperqueratosis, paraqueratosis focal, acantosis, melanóforos en la dermis superior, vasos linfáticos dilatados, vasos dérmicos tortuosos, y el aumento de mucina en la dermis superior. La fibrosis es el cambio más grave, con el aumento en el número de fibroblastos dérmicos reemplazando las papilas dérmicas que lleva a la fibrosis, los filamentos normales de colágeno y las fibras elásticas de la dermis son reemplazados gradualmente por tejido cicatricial hialinizado, esta paquidermia estaría asociada con una infección crónica. La última etapa se caracteriza por la atrofia dérmica con ictiosis focal, regional o general, pérdida de elasticidad, lo que le da al paciente una apariencia de anciano prematuro que se conoce como presbidérmia. También puede aparecer engrosamiento de la piel, que se denomina “piel de elefante”. Con la atrofia dérmica, la cicatrización no es casual, sino que tiene una disposición concéntrica alrededor de los vasos dérmicos tortuosos, junto con la destrucción de la corona de las fibras elásticas en las papilas dérmicas. Más tarde, las fibras elásticas gruesas de la dermis media y alta se distorsionan para formar enredos desorganizados que son finalmente destruidos o reemplazados. También la piel atrófica revela una capa de queratina delgada que normalmente separa de la epidermis. Es una epidermis muy delgada con dos o tres células de grosor en algunos lugares y pérdida de las crestas de Rete que ocasiona que la epidermis sea más fina y plana en su parte interna.

La despigmentación dérmica “piel de leopardo”, es considerada como un signo clásico de la oncocercosis crónica en África. Ha sido propuesto como un índice útil para estimar la prevalencia de la enfermedad en zonas endémicas. Sin embargo, cambios similares de despigmentación irregular pueden ser causados por un traumatismo, picaduras de moscas del género *Simulium*, la lepra o treponematosi, en particular en casos de pian y pinta. En Ecuador, la despigmentación de la piel, localizada en las regiones pretibiales, se encuentra solamente en la étnia afrodescendiente y no en los chachi, aunque se han descrito otros grupos amerindios

que han desarrollado despigmentación de la piel.

La dermatitis reactiva localizada “sowda” es común en Yemen con casos en el norte de Sudán, África Occidental y Guatemala. El sowda es el resultado de una fuerte respuesta inmunitaria celular y humoral por parte del hospedador contra *O. volvulus*. Se caracteriza por trastornos graves dérmicos generalmente localizados en una extremidad, piernas o brazos. Las lesiones están acompañadas por un prurito intenso, la piel afectada se hincha, oscurece y cubre de pápulas escamosas. Los ganglios linfáticos locales aparecen infartados. Las microfilarias son extremadamente difíciles de encontrar en biopsias de piel.

La frecuencia y gravedad de estas manifestaciones es variable de acuerdo con la duración e intensidad de la infección. En general, las características clínicas son el resultado de una respuesta inmunitaria patológica y las lesiones son proporcionales en su gravedad a la cantidad de microfilarias que mueren en la piel. Sin embargo, hay casos en los que los parásitos no produjeron ninguna reacción. Hay personas en las que se encuentran altas densidades de microfilarias dérmicas, pero no muestran ninguna manifestación clínica. El periodo prepatente generalmente es de 10 a 20 meses, pero puede llegar a los 34 meses. El período de incubación es muy variable, y podría extenderse varios años. En zonas hipoendémicas, un gran número de las personas infectadas permanecieron asintomáticas. Pueden tener nódulos subcutáneos y suelen tener bajo número de microfilarias en la piel. Estos casos se descubrieron solamente durante las encuestas epidemiológicas o por investigaciones que estudiaban eosinofilia sin motivo determinado.

Los oncocercomas, son granulomas resultantes de una reacción del tejido del paciente alrededor de los parásitos adultos. Estas formaciones se pueden encontrar en la dermis profunda y subcutánea. Por lo general se encuentran sobre prominencias óseas como cresta iliaca, coxis, cabeza y escápula. Clínicamente los oncocercomas son palpables, son de forma redonda u ovoide y de consistencia firme. Se pueden encontrar aislados o en grupos de 8 a 10 masas. En África, el 80% de los nódulos ocurren en las prominencias óseas de la cintura pélvica, cresta iliaca, coxis, sacro y trocánter mayor. También pueden aparecer en el abdomen, pared torácica, cabeza y extremidades. En América Central, los nódulos se encuentran comúnmente en la cabeza. Se cree que la ubicación de los nódulos refleja los hábitos de la picadura del

vector (Guderian et al., 2018; Otabil et al., 2019).

1.3.1.2 Linfadenitis: adenolinfocele y elefantiasis asociada.

La mayoría de las personas con oncocercosis tienen los ganglios linfáticos inflamados, especialmente en las regiones femorales e inguinales. Los ganglios linfáticos, también suelen ser firmes y resistentes, pero no dolorosos. La linfadenitis oncocercótica y especialmente las alteraciones en el tejido linfoide desempeñan un papel clave en la respuesta inflamatoria e inmunitaria. Está relacionada con el desarrollo del escroto o ingule colgante o adenolinfocele, y la elefantiasis. El adenolinfocele es una característica clínica de la oncocercosis africana, aunque no se ha reportado en el Yemen ni en ningún país de América. Las razones de estas diferencias geográficas no están bien establecidas. La linfadenitis presente en la oncocercosis que está acompañada por elefantiasis es restringida a los genitales. En Ecuador no se encontraron casos de ingule colgante. Mayoritariamente se encontró linfadenitis con una mayor prevalencia en la población afrodescendiente que en el grupo indígena chachi. De igual manera, el hidrocele y la elefantiasis se encontraron solamente en la población afrodescendiente. En Ecuador el aumento del tamaño escrotal se encontró en los hombres de edad avanzada con infección oncocercótica de larga duración y el hidrocele fue detectado en varones adolescentes (Guderian et al., 2018; Otabil et al., 2019).

1.3.1.3 Discapacidad Visual, Ceguera de los ríos

Las lesiones oculares que causan ceguera afecta a los segmentos anteriores y posteriores del ojo. Incluyen queratitis esclerosante, iridociclitis, atrofia óptica, y corioretinopatía. La causa principal de la pérdida de la visión es la lesión en el segmento posterior, particularmente afectación de la retina. La deficiencia visual es la complicación más grave, que generalmente se observa en infecciones moderadas a graves (Guderian et al., 2018; Cooper et al., 1995).

1.3.2 Diagnóstico.

El método utilizado habitualmente para diagnosticar las infecciones por *O. volvulus* es la detección microscópica de microfilarias en cortes de piel. La palpación de nódulos es poco sensible (Lloyd et al., 2015). El diagnóstico de las infecciones por filarias en individuos que residen en zonas donde la enfermedad no

es endémica requiere tanto la sospecha clínica y el examen parasitológico. Los ensayos de diagnóstico molecular de filarias desarrollados recientemente son muy sensibles y específicos, pero su disponibilidad es limitada y no se han evaluado detenidamente para su uso clínico (Fink et al, 2011).

1.3.2.1 Diagnóstico inmunológico y molecular

El Programa de Eliminación de la Oncocercosis para América (PNEO) propuso el análisis inmunoenzimático (ELISA) con el antígeno Ov16 presente en todas las fases del ciclo vital del parásito en África y América Latina. Se encontró una prevalencia inferior al 0,1%, estudiando muestras de 69.888 niños de edad escolar. Se alcanzó una especificidad del 99,98%, por lo que podía ser utilizado como método de verificación de la eliminación de la transmisión de la oncocercosis. Se determinó que tenía una sensibilidad equivalente a la microscopia de raspado cutáneo.

Hay acuerdo en el uso de ensayos para detectar la presencia de IgG4 contra el Ov16. La estrategia consiste en medir la prevalencia de anticuerpos contra el Ov16 en niños que, al haber nacido después de la llegada del programa de eliminación, no deberían estar expuestos al parásito si el programa tiene éxito. Como alternativa en serodiagnóstico se utilizan el antígeno recombinante OvH3 con el que se alcanza sensibilidad de 93,2% y especificidad de 93,5%, en pacientes de zona no endémica con diagnóstico clínico de oncocercosis (Richards et al, 2018; Lipner et al., 2006; Andrews et al, 2007).

Los ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar larvas de *O. volvulus* en *Simulium*, proporcionan una estimación más precisa de las tasas de infección en la población de vectores. Se destaca la importancia del monitoreo de la efectividad del tratamiento y en la orientación de los programas de control de la oncocercosis. En el genoma de *O. volvulus* existe una secuencia de ADN Ov-150 específica para género, especie, y cepa. Sobre la base de dicha secuencia, se desarrolló una prueba molecular de amplificación *in vitro* y detección de ADN Ov-150 mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Rodríguez-Pérez et al., 2004; Guderian et al., 2018). La PCR cuantitativa basada en la curva de fusión que utiliza cebadores degenerados dirigidos a la repetición O-150 de *O. volvulus* se consideró insuficiente para confirmar el diagnóstico individual, especialmente en estudios de eliminación. Un nuevo ensayo propone la secuencia O-5S también en PCR cuantitativa. Es más sensible que el examen microscópico y que el ensayo O-150 para la detección de *O. volvulus* en muestras de piel. Este nuevo ensayo de nuevo diseño arroja una tasa de positividad del 66,5% en

200 habitantes estudiados en los que la microscopia encontraba desde el 55,6% y la PCR cuantitativa para O-150 un 59,4% respectivamente (Mekonnen et al, 2017).

1.4 Tratamiento de la oncocercosis

1.4.1 Principios activos utilizados en oncocercosis

La ivermectina, es el principio activo de elección en la oncocercosis que actúa frente a las microfilarias, reduce sensiblemente la formación de nódulos y también reduce la transmisión de la enfermedad. Es una lactona macrocíclica semisintética, obtenida en el cultivo de *Streptomyces avermilitis*. El modo de acción se atribuye a la parálisis del verme por ser agonista del ácido gamma-amino-butírico (GABA). La acción recae especialmente sobre las microfilarias. Las reacciones alérgicas y los problemas oculares por destrucción de microfilarias son leves, comparadas con las que se observan con dietilcarbamizina. La ivermectina también disminuye el número de los parásitos adultos entre un 12 y un 22 %. El mecanismo de acción implica la apertura de los canales de cloro dependientes de glutamato asociados con la membrana neuromuscular. Se produce hiperpolarización de la membrana celular y parálisis de los miocitos. La faringe del nemátodo es la parte más afectada y se impide la ingestión de alimento (McCarthy et al., 2011). La actividad microfilaricida es potente en la piel y el ojo. De esta manera se explica los años que se debe dar para evitar la proliferación de la progenie de la especie mientras que el parásito adulto vive con una longevidad superior a 10 años (Rosenthal, 2015; Burki, 2013). La moxidectina es un derivado semisintético de la nemadectina, que es producido por *Streptomyces cyanogriseus*. Es un antiparasitario autorizado para animales, con mecanismo de acción similar al de la ivermectina. Se ha encontrado que tiene acción tanto contra las microfilarias como a los adultos por lo que se está ensayando en seres humanos con resultados interesantes.

La dietilcarbamazina fue utilizada anteriormente contra las microfilarias, pero tenía el inconveniente de producir reacciones alérgicas importantes y a veces graves. Aparecía dermatitis, queratitis, linfadenitis, etc. Si había compromiso ocular, debía tenerse mayores cuidados e iniciar el tratamiento con dosis bajas. Las reacciones alérgicas se controlan aplicando esteroides y antihistamínicos.

La amocarcina es un filaricida que actúa contra las microfilarias y los adultos que ha tenido únicamente desarrollo experimental. Era necesario retirar los nódulos

quirúrgicamente, con el objeto de eliminar los parásitos adultos y disminuir la producción de microfiliarias. Hubo ensayos clínicos para aplicar suramina pero produce reacciones alérgicas con frecuencia. Además presenta cierta toxicidad renal por lo que no se desarrolló posteriormente. (Botero et al., 1998; Guderian et al., 2018). Actualmente, no hay fármacos autorizados dirigidos a evitar la infección (Dowell et al., 2013).

1.5 Tratamiento de la oncocercosis clínica

Las principales metas son prevenir el desarrollo de secuelas irreversibles y contrarrestar los síntomas, basados en dos pilares fundamentales: el farmacológico y el quirúrgico. El primero incluye el uso de ivermectina, que reemplazó la dietilcarbamazina por su eficacia y los menores efectos adversos (Crump, 2012). Como alternativa se puede usar doxiciclina 100 mg/día por seis semanas, que disminuye la longevidad de los parásitos adultos a dos o tres años y esteriliza prácticamente a las hembras y tiene un efecto contra los adultos al eliminar la bacteria endosimbionte *Wolbachia* spp. En cuanto al segundo, se limita a la extracción quirúrgica de adultos de los oncocercomas ubicados en la cabeza, por la proximidad con el globo ocular (Carvajal et al., 2016; Nutman et al., 2015). La ivermectina se administra en dosis única por vía oral 150 µg/kg cada seis a 12 meses, por mínimo 10 años, aunque al administrarlo cada tres meses se disminuye el riesgo de efectos adversos (Rosenthal, 2015; Udall, 2007; Fobi et al., 2005; Kamgno et al., 2004). Es bien tolerado por los pacientes porque tiene efectos adversos leves como: fiebre, prurito, urticaria, mialgias, edema, hipotensión postural y linfadenopatía, posiblemente por la reacción al helminto muerto. Además, tiene un riesgo mínimo de causar una reacción de Mazzotti que es una respuesta inflamatoria grave (Carvajal et al., 2016; Rosenthal, 2015). La ivermectina está contraindicada en pacientes coinfectados con *Loa loa*, que tengan una carga parasitaria >8 000 microfiliarias/mL, porque puede provocar reacciones graves y facilitar su paso al sistema nervioso central y producir meningoencefalopatía (Nutman et al., 2015). Además, no hay ensayos clínicos específicos en el embarazo, lactancia y niños de menos de dos años por lo que no se recomienda (Awadzi et al., 2014) (Carvajal et al., 2016).

1.6 Control y prevención de la oncocercosis

Las intervenciones de control de la oncocercosis en el Ecuador estuvieron

integradas en el sistema sanitario local. Debían responder a las necesidades básicas de salud de la población. Consistía en reducir el contacto con los vectores, la aplicación masiva de ivermectina dentro de las intervenciones comunitarias multipropósito en salud.

1.6.1 Intervenciones comunitarias en salud

Las visitas comunitarias para enfrentarse con todos los problemas de salud, tales como el control de criaderos, impregnación de toldos, revisión de lesiones dérmicas. Con ellas se descartaban pian, leishmaniasis y lepra. Se identificaban pacientes hipertensos, desnutridos, con infecciones respiratorias agudas o con enfermedades diarreicas agudas. También se extendía a controles de la gestación, entre otras actividades. Se realizaban charlas educativas dirigidas a conocer la oncocercosis, las consecuencias graves como la ceguera, la adherencia al tratamiento y el saneamiento ambiental mediante mingas de limpieza, agua segura y viviendas seguras.

1.6.2 Control del contacto con el vector

Para el control de la oncocercosis, las intervenciones se han realizado en los tres eslabones de la cadena epidemiológica. i) Tratamiento de los enfermos, con quimioprofilaxis y desnodulación. ii) Acciones antivectoriales para tratar de eliminar o controlar las poblaciones de los simúlidos. iii) Acciones profilácticas para evitar las picaduras. Entre las medidas preventivas se destacan: evitar la picadura del mosquito y usar repelentes, identificar las especies vectoras y sus criaderos, y contar con medios e instalaciones para el diagnóstico y tratamiento. En caso de viajes a focos de oncocercosis se debe utilizar las medidas preventivas, evitar la picadura del mosquito con ropa adecuada y usar repelentes de insectos durante todo el día (Gobierno de México, 2016).

En regiones endémicas de África, el control del vector se han utilizando insecticidas en combinación con la aplicación masiva de ivermectina lo que ha permitido un nivel de eliminación de la transmisión de 90% en las regiones de sabana en África. Sin embargo, el costo del programa mediante aplicación de insecticidas era muy alto y el programa terminó en el 2002. El control de vector llevado a cabo por el POC interrumpió la transmisión, pero los individuos seguían albergando vermes adultos. Por ello en 1995, se creó el Programa de Control de Oncocercosis en África (APOC). El objetivo fue reducir la morbilidad y transmisión mediante administración

anual masiva de ivermectina en todas las zonas endémicas (Rodríguez et al., 2010). Aunque el programa mostró resultados favorables, en la transmisión de la enfermedad existe el riesgo de la reemergencia a mediano plazo. Por todo ello, se buscan nuevas estrategias para terminar con la enfermedad, entre ellas la combinación de fármacos y el desarrollo de fármacos con nuevos mecanismos de acción (Márquez, 2017). Como consecuencia de los frecuentes viajes turísticos a regiones endémicas de oncocercosis la presentación de esta enfermedad aumenta en países no endémicos. Este hecho, unido a que los vectores han colonizado nuevas áreas favorece el incremento de casos de alteraciones oculares por oncocercosis (Díaz, 2015).

1.6.3 Aplicación de ivermectina en masa

La estrategia fundamental para eliminar la oncocercosis es el tratamiento con ivermectina dirigido a las comunidades más afectadas en masa sin hacer diagnóstico individual. En Ecuador se utilizó ivermectina como tratamiento eficaz en la población de riesgo (Gobierno México, 2016). En 1993 se creó el Programa para la Eliminación de la Oncocercosis en América (OEPA). Este programa logró en los primeros años reducir significativamente algunas de las manifestaciones patológicas de la enfermedad, principalmente las lesiones oculares y nódulos (Cupp et al., 2004; Rodríguez et al., 2010). Los objetivos del programa fueron secuencialmente el control de morbilidad, la interrupción de transmisión y finalmente la eliminación de la infección (Rodríguez et al., 2010; Sauerbrey, 2008). La evidencia más convincente del impacto de la ivermectina sobre la transmisión procede de los estudios hechos en Guatemala, donde se demostró la reducción en el potencial de transmisión en ciertas localidades. En Ecuador fue donde se demostró interrupción de la transmisión. Estos estudios indican que si la cobertura de la población es alta, el tratamiento se distribuye dos veces por año, el área tratada es grande, y el vector es relativamente poco eficiente (ej. *S. ochraceum* en Guatemala y *S. quadrivittatum* en Ecuador) (Collins et al., 1992; Cupp et al., 2004; Guderian et al., 1997; Vivas-Martínez et al., 2023). Aun cuando las coberturas sean bajas (ej. 30%), la reducción en el reservorio de microfilarias ha resultado en una reducción proporcional en la intensidad de transmisión por *S. damnosum*, (Chavasse et al., 1995; Vivas-Martínez et al., 2023) si bien no en su interrupción. La disminución de la población de microfilarias de *O. volvulus* en áreas tratadas repetidamente con ivermectina, puede explicarse por el efecto microfilaricida de la droga, reforzado por el efecto acumulativo que dosis repetidas tienen sobre la fecundidad de las hembras adultas (Duke et al., 1991). También

se ha demostrado, que se logra una reducción notable en la prevalencia e intensidad de microfilarias en niños no tratados, a pesar de coberturas promedio por debajo de 60% y alta competencia de vectores locales (Boussinesq et al., 1997; Vivas-Martínez et al., 2023).

1.8 Referencias

- Ackerman SJ, Kephart GM, Francis H, Awadzi K, Gleich GJ, Ottesen EA. Eosinophil degranulation: an immunologic determinant in the pathogenesis of the Mazzotti reaction in human onchocerciasis. *J Immunol* 1990; 144:3961-3969.
- Andrews JA, Bligh WJ, Chiodini PL, Bradley JE, Nde PN, Lucius R. The role of a recombinant hybrid protein based ELISA for the serodiagnosis of *Onchocerca volvulus*. *J Clin Pathol*. 2008 Mar;61(3):347-51.
- Awadzi K, Opoku NO, Attah SK, Lazdins-Helds J, Kuesel AC. A randomized, single-ascending dose, ivermectin-controlled, double-blind study of moxidectin in *Onchocerca volvulus* infection. *PLoS Negl Trop Dis* 2014; 8(6):e2953.
- Blanks J., Richards F., Beltran F., Collins R., Alvarez E., Zea Flores G., Bauler B., Cedillos R., Heisler M., Brandling-Bennett D., Baldwin W., Bayona M., Klein R., Jacox M., 1998. The Onchocerciasis Elimination Program for the Americas: a history of partnership. *Rev. Panam Salud Pública* 3 (6) 367-375.
- Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia 1999.
- Boussinesq M., Prod'hon J., Chippaux J. P. *Onchocerca volvulus*: striking decrease in transmission in the Vina valley (Cameroon) after eight annual large scale ivermectin treatments. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1997; 91: 82–86.
- Bratig NW, Krawitz I, Abakar H, Ertlman RD, Kruppa TK, Massaougbodji A. Strong immunoglobulin G isotype antibody response in sowda type onchocerciasis. *J Infect Dis* 1994; 170:995-1061
- Braun G, McKechnie NM, Connor V, Gilbert CE, Engelbrecht F, Whitworth JA. Immunological crossreactivity between a cloned of *Onchocerca volvulus* and a component of the retinal pigment epithelium. *J Exp Med*. 1991; 174:169-77.
- Burki T. River blindness elimination in Columbia. *Lancet Infect Dis* 2013; 13(11):922-923.
- Carvajal Fernández, J; Zambrano Saldarriaga, J; Suárez Escudero, J; Duque Restrepo, D. I Oncocercosis: de lo básico a lo clínico Medicina U.P.B., vol. 35, núm. 2, julio-diciembre, 2016, pp. 111-119 Universidad Pontificia Bolivariana Medellín, Colombia
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Onchocerciasis. U.S. December 14, 2017. <https://www.cdc.gov/dpdx/onchocerciasis/index.html>.
- Chavasse DC, Lines JD, Ichimori K, Marijani J. Mosquito control in Dar es Salaam. I. Assessment of *Culex quinquefasciatus* breeding sites prior to intervention. *Med Vet Entomol*. 1995 Apr; 9(2):141-6.
- Collins R. C., Gonzalez-Peralta C., Castro J., Zea-Flores G., Cupp M. S., Richards F. O., Cupp E. W. Ivermectin: reduction in prevalence and infection intensity of *Onchocerca volvulus* following biannual treatments in five Guatemalan communities. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1992; 47: 156–169.

- Collins R., Lehmann T, Vieira J. C., and Guderian R.H. Vector Competence of *Simulium exiguum* for *Onchocerca volvulus*: Implications for the Epidemiology of Onchocerciasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1993; 52: 213-218.
- Cooper PJ, Proaño R, Beltran C, Anselmi M, Guderian RH. Onchocerciasis in Ecuador: ocular findings in *Onchocerca volvulus* infected individuals. *Br J Ophthalmol*. 1995 Feb;79(2):157-62.
- Cotton, J., Bennuru, S., Grote, A. The genome of *Onchocerca volvulus*, agent of river blindness. *Nat Microbiol* 2017, 2 16216
- Crosskey, R. The Natural History of Blackflies. Publicado por Wiley, J., & Sons, England. Other Wiley Editorial Offices. 1990; 3-6
- Cupp EW, Duke O, Mackenzie CD, Guzman JR, Vieira JC, Men-des-Galván J, et al. Eversole and MS Cupp. The effects of long-term community level treatment with ivermectin (Mectizan) on adult *Onchocerca volvulus* in Latin America. *Am J Trop Med Hyg*. 2004; 71: 602-607.
- Diaz J. Ocular Filiarisis in US Residents. Returning Travelers, and Expatriates. *J La State Med Soc*. 2015; 167(4): 172-176.
- Dick G. et al. Zika virus: isolations and serological specificity *Trans R Soc Trop Med Hyg* (1952).
- Djafsia, B; Ndjonka, D; Dikti, JV; van Hoorn, S; Manchang, K; Brattig, N; Liebau, E. Immune recognition of excretory and secretory products of the filarial nematode *Onchocerca ochengi* in cattle and human sera *BMC Infect Dis*. 2018 May 2;18(1):200.
- Dowell SF, Sejvar JJ, Riek L, Vandemaele KA, Lamunu M, Kuesel AC, et al. Nodding syndrome. *Emerg Infect Dis* 2013; 19(9):1374-1384
- Duke B. O. L., Zea-Flores G., Castro J., Cupp E. W., Muñoz B. Comparison of the effects of a single dose and of four six monthly doses of ivermectin on adult *Onchocerca volvulus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 1991; 45: 132-137.
- Fink DL, Fahle GA, Fischer S, Fedorko DF, Nutman TB. Toward molecular parasitologic diagnosis: enhanced diagnostic sensitivity for filarial infections in mobile populations. *J Clin Microbiol*. 2011 Jan;49(1):42-7.
- Fobi G, Gardon J, Kamgno J, Aimard-Favennec L, Lafleur C, Gardon-Wendel N, et al. A randomized, double-blind, controlled trial of the effects of ivermectin at normal and high doses, given annually or three-monthly, against *Onchocerca volvulus*: ophthalmological results. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005; 99:279-289.
- Freeland RD. "Picture this...Onchocerciasis". *J Spec Oper Med*. 2009; 9: 136-44
- García-Dihinx VJ, Betrian P, De Juan F, Bouthelie M, Marin-Bravo C, J Reviño. Parasitosis by *Onchocerca volvulus*. *An Esp Pediatr* 2001; 55:486-487.
- García-Dihinx VJ, Betrian P, De Juan F, Bouthelie M, Marin-Bravo C, J Reviño. Parasitosis by *Onchocerca volvulus*. *An Esp Pediatr* 2001; 55:486-487.
- Gillette-Ferguson I, Hise AG, Sun Y, Diaconu E, McGarry HF, Taylor MJ, et al. *Wolbachia* and *Onchocerca volvulus* induced keratitis (river blindness) is dependent on myeloid differentiation factor 88. *Infect Immun*. 2006,74:2442-2445.
- Gobierno México. Información general oncocercosis, Secretaría de Salud México marzo de 2016.

- Guderian R, Anselmi M, Guevara Á, Proaño R, Lovato R, Historia de la Oncocercosis “Ceguera de los ríos en el Ecuador. Universidad Central del Ecuador, Quito, 2018.
- Guderian R. H., Anselmi M., Espinel M., Mancero T., Rivadeneira G., Proaño R. et al. Successful control of onchocerciasis with community-based ivermectin distribution in the Rio Santiago focus in Ecuador. *Trop. Med. Int. Health.* 1997; 2: 982–928.
- Hall LR, Pearlman E. Pathogenesis of onchocercal keratitis (River Blindness). *Clin. Microbiol. Rev* 1999; 12:445-453.
- Hoerauf A, Büttner DW, Adjei O, Pearlman E. Endosymbiotic Wolbachia bacteria in the worms are targets for a new therapeutic approach. *BMJ* 2003, 326:207-210.
- Kalmobe J, Djafsia B, Schmidt T.J, Liebau E and Dieudonne Ndjonka Anti-Onchocerca and Anti-Caenorhabditis Activity of a Hydro-Alcoholic Extract from the Fruits of Acacia nilotica and Some Proanthocyanidin Derivatives Jacqueline Dikti Vildina *Molecules* 2017, 22, 748.
- Kamgno J, Gardon J, Gardon-Wendel N, Demanga-Ngangue, Duke BO, Boussinesq M. Adverse systemic reactions to treatment of onchocerciasis with ivermectin at normal and high doses given annually or three-monthly. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004; 98:496–504
- Katarbarwa MN, Zarroug IMA, Negussu N, Aziz NM, Tadesse Z, Elmubark WA, Shumo Z, Meribo K, Kamal H, Mohammed A, Bitew Y, Seid T, Bekele F, Yilak A, Endeshaw T, Hassen M, Tillahun A, Samuel F, Birhanu H, Asmare T, Boakye D, Feleke SM, Unnasch T, Post R, Higazi T, Griswold E, Mackenzie C, Richards F. The Galabat-Metema cross-border onchocerciasis focus: The first coordinated interruption of onchocerciasis transmission in Africa. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020 Feb 6; 14(2):e0007830.
- Kipp W, Bamhuhiga J. Onchodermal skin disease in a hyperendemic onchocerciasis focus in western Uganda. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67:475-479.
- Lakwo T, Oguttu D, Ukety T, Post R, Bakajika D. Onchocerciasis Elimination: Progress and Challenges. *Res Rep Trop Med.* 2020 Oct 7; 11:81-95.
- Lipner EM, Dembele N, Souleymane S, Alley WS, Prevots DR, Toe L, Boatin B, Weil GJ, Nutman TB. Field applicability of a rapid-format anti-Ov-16 antibody test for the assessment of onchocerciasis control measures in regions of endemicity. *J Infect Dis.* 2006 Jul 15;194(2):216-21.
- Luang-Hu L. Visión 2020 and Prevention of Blindness: Is it Relevant of Achievable in the Modern Era? *Ann. Acad. Med. Sin-gap* 2006; 35:215-222.
- Lloyd MM, Gilbert R, Taha NT, Weil GJ, Meite A, Kouakou IM, Fischer PU. Conventional parasitology and DNA-based diagnostic methods for onchocerciasis elimination programmes. *Acta Trop.* 2015 Jun;146:114-8.
- Magdi MA. Immunologic Aspects of the pathogenesis of Human Onchocerciasis. Tesis de Doctorado. Stockholm University 2006; 14-17
- Mekonnen SA, Beissner M, Saar M, Ali S, Zeynudin A, Tesfaye K, Adbaru MG, Battke F, Poppert S, Hoelscher M, Löscher T, Bretzel G, Herbringer KH. O-5S quantitative real-time PCR: a new diagnostic tool for laboratory confirmation of human onchocerciasis. *Parasit Vectors.* 2017 Oct 2;10(1):451.
- McCarthy J, Loukas A, Hotez PJ. Chapter 51. Chemotherapy of Helminth Infections. In: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC. eds. Goodman & Gilman’s The Pharmacological Basis of Therapeutics, 12e. New York, NY: McGraw-Hill; 2011

- Molyneux DH, Aboe A, Isiyaku S, et al. COVID-19 and neglected tropical diseases in Africa: impacts, interactions, consequences. *Int Health* 2020; 12 (5):367–72.
- Molyneux DH, Hotez PJ, Fenwick A. “Rapid-Impact Interventions”: How a Policy of Integrated Control for Africa’s Neglected Tropical Diseases Could Benefit the Poor. *PLoS Med.* 2005; 2(11):e336.
- Murdoch ME, Hay RJ, Mackenzie CD, Williams JF, Ghalib HW, Cousens S, et al. A clinical classification and grading system of the coetaneous changes in onchocerciasis. *Br J Dermatol* 1993; 129:260-269.
- Nikièma AS, Koala L, Post RJ, Paré AB, Kafando CM, Drabo F, Belem AMG, Dabiré RK, Traoré S. Onchocerciasis prevalence, human migration and risks for onchocerciasis elimination in the Upper Mouhoun, Nakambé and Nazinon river basins in Burkina Faso. *Acta Trop.* 2018 Sep; 185:176-182.
- Nutman TB, Weller PF. Filarial and Related Infections. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson J, Loscalzo J. eds. *Harrison’s Principles of Internal Medicine*, 19e. New York, NY: McGraw-Hill; 2015.
- Okulicz JF, Stibich AS, Elston DM, Scwartz RA. Cutaneous onchocercoma. *Int J Dermatol* 2004; 43:170-172.
- OMS. Onchocercosis. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/onchocerciasis>. 2022
- OPS/OMS. Guía para el desarrollo de planes integrados de acción para la prevención, control y eliminación de las enfermedades infecciosas desatendidas en Latino América y el Caribe. (2011), Washington, D.C. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2012/Guia-POA-integrado-EID-2011.pdf>
- Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud, CD35.R14 Erradicación/Eliminación de ciertas enfermedades de la Región; 1991
- Osei-Atweneboana MY, Awadzi K, Attah SK, Boakye DA, Gyapong JO, Prichard RK. “Phenotypic evidence of emerging ivermectin resistance in *Onchocerca volvulus*”. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5: e998
- Otabil KB, Gyasi SF, Awuah E, Obeng-Ofori D, Atta-Nyarko RJ, Andoh D, Conduah B, Agbenyikey L, Aseidu P, Ankrah CB, Nuhu AR, Schallig HDFH. Prevalence of onchocerciasis and associated clinical manifestations in selected hypoendemic communities in Ghana following long-term administration of ivermectin. *BMC Infect Dis.* 2019 May 17;19(1):431.
- Priego A, Rosa AJ. Onchocercosis. Flores M (Ed.), *Parasitología médica*, 4e. McGraw Hill; 2014.
- Ríos Yuil JM, Ríos Castro M, Yuil de Ríos E, Mercadillo Pérez P. Onchocercosis: la delicada danza de un parásito, un endosimbionte y la respuesta inmune del hospedero Onchocerciasis: the delicate dance between a parasite, an endosymbiont and the host immune response *Dermatología CMQ* 2013; 11(4):277-287.
- Richards FO, Katarbarwa M, Bekele F, Tadesse Z, Mohammed A, Sauerbrey M, Dominguez-Vazquez A, Rodriguez-Perez MA, Fernández-Santos NA, Rizzo N, Schuler Martínez HR, Lovato Silva R, Morales Monroy Z, Habomugisha P, Oguttu DW, Zarroug IMA, Aziz NA, Unnasch TR. Operational Performance of the *Onchocerca volvulus* "OEPA" Ov16 ELISA Serological Assay in Mapping, Guiding Decisions to Stop Mass Drug Administration, and Posttreatment Surveillance Surveys. *Am J Trop Med Hyg.* 2018 Sep;99(3):749-752.

- Rodríguez GC, Lizarazo C. Revisión epidemiológica de la Onchocercosis en América Latina. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública* 2010; 28(1): 73-80.
- Rodríguez-Pérez MA, Unnasch TR, Domínguez-Vázquez A, et al. "Interruption of transmission of *Onchocerca volvulus* in the Oaxaca focus, Mexico". *Am J Trop Med Hyg.* 2010; 83: 21-27.
- Rodríguez-Pérez MA, Unnasch TR, Real-Najarro O. Assessment and monitoring of onchocerciasis in Latin America. *Adv Parasitol.* 2011;77:175-226.
- Rodríguez-Pérez MA, Lilley BG, Domínguez-Vázquez A, Segura-Arenas R, Lizarazo-Ortega C, Mendoza-Herrera A, Reyes-Villanueva F, Unnasch TR, 2004. Polymerase chain reaction monitoring of transmission of *Onchocerca volvulus* in two endemic states in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 70: 38–45.
- Rosenthal PJ. Clinical Pharmacology of the Antihelminthic Drugs. In: Katzung BG, Trevor AJ. eds. *Basic & Clinical Pharmacology*, 13e. New York, NY: McGraw-Hill; 2015.
- Sauerbrey M. The Onchocerciasis Elimination Program for the Americas (OEPA). *Ann Trop Med Parasitol.* 2008 Sep;102 Suppl 1:25-9.
- Shelley AJ, Arzube M. Studies on the biology of Simuliidae (Diptera) at the Santiago onchocerciasis focus in Ecuador, with special reference to the vectors and disease transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1985; 79(3):328-38.
- Shelley AJ. "Human onchocerciasis in Brazil: an overview". *Cad Saude Pública.* 2002; 18: 1167-1177.
- Udall DN. Recent updates on onchocerciasis: diagnosis and treatment. *Clin Infect Dis.* 2007; 44(1):53-60.
- Vieira JC, Cooper PJ, Lovato R, Mancero T, Rivera J, Proaño R, López AA, Guderian RH, Guzmán JR. Impact of long-term treatment of onchocerciasis with ivermectin in Ecuador: potential for elimination of infection. *BMC Med.* 2007 May 23; 5:9.
- Villar Aguirre Manuel. Factores determinantes de la salud: Importancia de la prevención. *Acta méd. Peruana.* 2011, 28(4): 237-241.
- Vivas-Martínez Sarai, Grillet María-Eugenia, Botto Carlos, Basáñez María-Gloria. La onchocercosis humana en el foco amazónico. *Bol Mal Salud Amb.* 2023; 47(1): 15-46.
- Winthrop KL, Furtado JM, Silva JC, Resnikoff S, Lansingh VC. "River blindness: an old disease on the brink of elimination and control". *J Glob Infect Dis.* 2011; 3: 151-155.
- Yaméogo L, Toé L, Hougard J. M., Boatin B. A, and Unnasch T. R. Pool screen polymerase chain reaction for estimating the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in *Simulium damnosum* sensu lato: Results of a field trial in an area subject to successful vector control. *American journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 1999; 60, 124-128.
- Zimmerman PA, Guderian RH, Aruajo E, Elson L, Phadke P, Kubofcik J, Nutman TB. Polymerase chain reaction-based diagnosis of *Onchocerca volvulus* infection: improved detection of patients with onchocerciasis. *J Infect Dis.* 1994 Mar; 169(3):686-9.
- Zimmerman PA, Dadzie KY, Sole G, Remme J, Unnasch T. *Onchocerca volvulus* DNA probe classification correlates with epidemiologic patterns of blindness. *J Infect Dis* 1992; 165:964-968.

CAPITULO II: Hipótesis y Objetivos

2.1 Hipótesis

En el momento actual la infección por *Onchocerca volvulus* está en situación de vigilancia post-eliminación después de la certificación de la eliminación en 2014 en los últimos focos en el área de Esmeraldas, en Ecuador. El reto actual es monitorizar la situación epidemiológica y tener las herramientas adecuadas para que se identifique una potencial recrudescencia de la infección. Se dispone de herramientas para detectar la presencia de anticuerpos en la población y secuencias de ADN específicas para identificar *O. volvulus* en el vector principal *Simulium exiguum*. También se dispone de los registros del Programa Nacional de Eliminación de la Oncocercosis del Ecuador (PNEO) de los últimos 40 años que permiten hacer un estudio de las medidas implementadas y valorar las medidas que deben establecerse hasta la total erradicación de la oncocercosis.

La hipótesis de trabajo es probar la utilidad de una técnica ELISA para detectar anticuerpos específicos en las localidades más afectadas en el área de Esmeraldas y, probar la viabilidad de una PCR tiempo real para detectar secuencias específicas de *O. volvulus* en los principales vectores de las zonas endémicas. Además, el estudio las medidas aplicadas para la eliminación de la oncocercosis en Ecuador permitirá establecer el potencial riesgo de expansión de la enfermedad y las medidas de vigilancia sobre el terreno que deben permanecer en las zonas exendémicas.

2.2. Objetivos

El objetivo general es estudiar la presencia de anticuerpos frente a *Onchocerca volvulus* y de secuencias específicas del parásito en población residente y en el vector *Simulium exiguum* respectivamente como herramientas para asegurar la eliminación de la infección. También se estudiarán las medidas de control a lo largo de 40 años, el potencial de difusión de enfermedad por la migración y las medidas post-eliminación que se pueden adoptar.

Los objetivos específicos son:

- I. Determinar la seroprevalencia por detección de anticuerpos frente a *Onchocerca volvulus* en niños menores de diez años residentes en una zona donde hubo oncocercosis endémica.

- II. Determinar la tasa de infectividad por amplificación del ADN de *Onchocerca volvulus* en vectores transmisores, recolectados seis años después de haber realizado los últimos estudios de vigilancia epidemiológica de la oncocercosis en Ecuador.

- III. Describir el impacto de las estrategias aplicadas para el control de la oncocercosis en los focos endémicos en las últimas cuatro décadas y estimar el riesgo de propagación geográfica de la enfermedad como consecuencia de la migración de la población.

**CAPÍTULO III:
Artículos de investigación**

3.1

Use of Ov16-Based Serology for Post-Elimination Surveillance of Onchocerciasis in Ecuador

Ángel Guevara, Esteban Salazar, Yosselin Vicuña, Hassan K.
Hassan, Antonio Muro, Ronald Guderian, Philip J. Cooper, and
Thomas R. Unnasch

Am. J. Trop. Med. Hyg. 2020; 103(4):1569-1571

RESUMEN

El primer reto fue desarrollar una prueba diagnóstica que brinde el mejor coste/beneficio, por lo que se seleccionó la técnica ELISA in house con Ag Ov66 para monitorear el resurgimiento de la transmisión de *Onchocerca volvulus* post-eliminación. Guiados por la historia natural de la enfermedad, hemos tomado la población menor de 10 años, es decir niños nacidos después de la supresión de la aplicación de la ivermectina en masa e interrupción de la transmisión de la oncocercosis. Aunque la técnica es fiable, nos plantea *a priori* varios problemas: posterior a la eliminación de la oncocercosis en el Ecuador, no existe una infraestructura calificada para el diagnóstico de *O. volvulus*. Se requiere de un personal con experiencia entrenado. Con estos antecedentes se procesaron 123 muestras de suero de niños de 5 a 9 años que vivían en cuatro comunidades: Zapallo Grande (n = 34), San Miguel (n = 24), El Tigre (n = 30) y Corriente Grande (n = 35) anteriormente hiperendémicas para la oncocercosis en la provincia de Esmeraldas en Ecuador. Todas las muestras fueron negativas. En conclusión, hemos utilizado la serología basada en Ov16 para monitorear el posible resurgimiento de la transmisión de *O. volvulus* en comunidades anteriormente hiperendémicas luego de la certificación de la eliminación de la oncocercosis en Ecuador. Nuestros datos no muestran evidencia de transmisión desde 2009, cuando se suspendió la aplicación masiva de ivermectina. Creemos que la vigilancia basada en Ov16 ofrece ventajas prácticas sobre las mediciones de la infectividad del vector para la vigilancia posterior a la certificación en entornos con recursos limitados.

Use of Ov16-Based Serology for Post-Elimination Surveillance of Onchocerciasis in Ecuador

Ángel Guevara,^{1*} Esteban Salazar,^{1,2,3} Yosselin Vicuña,¹ Hassan K. Hassan,⁴ Antonio Muro,³ Ronald Guderian,⁵
Philip J. Cooper,^{6,7} and Thomas R. Unnasch⁴

¹Instituto de Biomedicina, Carrera de Medicina, Universidad Central, Quito, Ecuador; ²Distrito Calderón Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito, Ecuador; ³Infectious and Tropical Diseases Group (e-INTRO), IBSAL-CIETUS (Biomedical Research Institute of Salamanca-Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca), Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Salamanca, Spain; ⁴Center for Global Health Infectious Diseases, University of South Florida College of Public Health, Tampa, Florida; ⁵Hospital Vozandes, Quito, Ecuador; ⁶Facultad de Ciencias Médicas de la Salud y la Vida, Universidad Internacional del Ecuador, Quito, Ecuador; ⁷Institute of Infection and Immunity, St. George's University of London, London, United Kingdom

Abstract. Onchocerciasis is a blinding disease caused by the filarial parasite *Onchocerca volvulus*, with a worldwide distribution. Onchocerciasis has been targeted for regional elimination based on annual and semiannual mass drug administration (MDA) with ivermectin in endemic communities over several years. This strategy in Ecuador led to the interruption of transmission and suspension of ivermectin MDA in 2009 with certification of elimination in 2014. In the present study, we analyzed sera collected in 2018 from 123 children aged 5–9 years from formerly hyperendemic communities in the Esmeraldas focus, Ecuador, for the presence of antibodies to Ov16 antigen. All samples were negative, indicating no evidence of transmission since MDA was stopped. Ov16-based serology offers an economic and practical alternative for measuring vector infectivity for post-certification surveillance in formerly endemic countries where expertise and capacity to reliably measure fly infectivity rates are costly to maintain.

Onchocerciasis, caused by the filarial parasite *Onchocerca volvulus*, infects an estimated 17 million people in endemic areas of Africa, the Americas, and the Eastern Mediterranean region, and 205 million people are considered to be at risk of infection.¹ Onchocerciasis is a neglected tropical disease targeted for regional elimination and eventual global elimination.¹ In Latin America, a strategy of community-based periodic mass drug administrations (MDAs) with ivermectin has led to certification of elimination in endemic foci in Colombia, Ecuador, Mexico, and Guatemala, although transmission is still active in an isolated rain forest focus on the Brazil–Venezuela border.² In Ecuador, annual or semiannual ivermectin was administered to endemic communities in the endemic foci in Esmeraldas Province from 1991 to 2009 when treatments were stopped following interruption of transmission.^{3,4} Posttreatment surveillance (PTS) of black flies by PCR to detect *O. volvulus* DNA (O-150 PCR) in 2012 showed no evidence of active transmission,⁴ and elimination of onchocerciasis in Ecuador was certified in 2014. Measurement of infectivity rates in vectors by O-150 PCR is considered the key parameter for the detection of interruption of and resurgence in transmission, but useful also is the evaluation of exposure to *O. volvulus* by measurement of antibodies to an *O. volvulus*-specific antigen, Ov16.⁵

In the present study carried out in June 2018, almost 4 years after certification of elimination, we collected 123 blood samples from children aged 5–9 years living in four formerly hyperendemic communities for onchocerciasis in Esmeraldas Province in Ecuador (Figure 1): Zapallo Grande ($n = 34$), San Miguel ($n = 24$), El Tigre ($n = 30$), and Corriente Grande ($n = 35$). The mean age of the 123 children sampled was 7.5 years (range 5–9 years), and 53.7% were male.⁶ Sera were tested for the presence of IgG4 antibodies to Ov16 antigen using an ELISA test as described.^{7,8} In brief, ELISA plates were coated with 100 μ L of 2.0 μ g/mL Ov16 antigen. Between each step,

the plates were washed with phosphate-buffered saline containing 0.1% Tween 20 (PBS-T), used also as diluent. Plate wells were incubated sequentially with 50 μ L of sera (diluted 1/50 in PBS-T containing 5% [w/v] bovine serum albumin) or negative or positive controls and incubated at room temperature (RT) for 2 hours. Then, the plates were incubated with antihuman IgG₄-biotin conjugate (1:1,000) for 1 hour at RT and streptavidin-alkaline phosphatase (1:2,000) for 1 hour at RT. The plates were developed with p-nitrophenyl phosphate until the positive control had reached an optical density (OD) of 1.1. Reactions were stopped with 25 μ L of 3 M NaOH and read after 5 minutes at 405 nm. All samples were tested in duplicate and considered putatively positive if the OD in duplicate wells differed by less than 10% and the mean OD of the wells from the sample was equal to or greater than the signal obtained from a 1/1,280 dilution of a pool of known positive sera. Putatively positive samples were retested using the same procedure. A sample was classified as a confirmed positive if it gave a positive result in the confirmatory assay and in the initial assay. None of the 123 samples were positive for Ov16-specific IgG4 antibodies (95% CI: 0–3).

Ov16-based serological assays in young children can be used to monitor resurgence of transmission of *O. volvulus*: young children born following suppression and interruption of transmission in black fly vectors would be expected to be negative for Ov16 antibodies. This study, carried out in formerly hyperendemic communities for onchocerciasis in Ecuador, which were the last to receive ivermectin MDA and which would be the first in which resumption of transmission of onchocerciasis would be detected, confirms the absence of *O. volvulus* transmission in these communities for at least 9 years (i.e., since the oldest child was born in 2009 around the time that ivermectin MDA was stopped in these communities). These findings are consistent with previous serological studies using the same assay in the Esmeraldas focus, where large samples of children aged up to 15 years were shown to be negative up to 2008.³

Current guidelines for the use of the Ov16 assay are to confirm the interruption of transmission as part of PTS when the results of fly infectivity rates show levels close to the

* Address correspondence to Ángel Guevara, Instituto de Biomedicina, Carrera de Medicina, Universidad Central del Ecuador, Iquique N14-121 y Sodiro, Quito 170136, Ecuador. E-mail: agguevara@uce.edu.ec

LOCATION OF THE FORMER ONCHOCERCOSIS HYPERDEMIC COMMUNITIES PROVINCE OF ESMERALDAS, ECUADOR

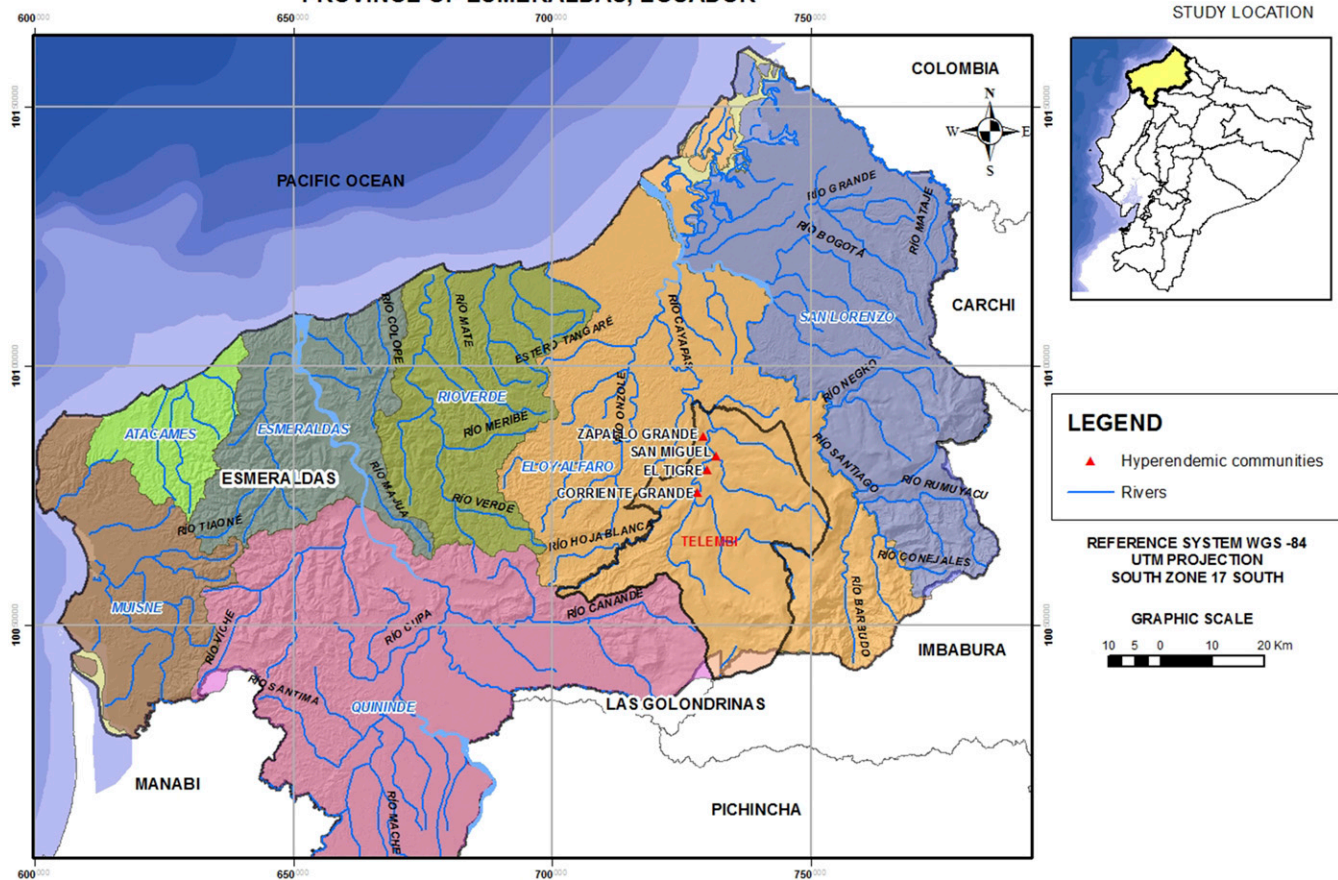


FIGURE 1. Location of the former onchocerciasis hyperendemic communities, province of Esmeraldas, Ecuador. This figure appears in color at www.ajtmh.org.

threshold for the interruption of transmission. Recommendations for post-elimination surveillance include periodic testing of fly infectivity by O-150 PCR until elimination is verified in all endemic countries in the same region.⁵ However, conducting black fly collections and O-150 PCR following certification of elimination is a challenge for most formerly endemic countries including Ecuador with multiple competing demands for scarce health resources: maintaining such capacity requires continued investment in infrastructure and personnel. In the case of the latter, effective vector surveillance requires experience and expertise as well as historical knowledge of where and when to sample vectors to detect transmission. In the specific case of Ecuador, following certification of elimination, the program's entomological expertise was lost because of reassignment or loss of experienced staff and lack of an assigned budget for post-certification activities. The measurement of Ov16 antibodies offers potential advantages over studies of fly infectivity. First, it is much less costly and time-consuming to collect, transport, and test sera from schoolchildren than to conduct black fly collections that require maintaining specialized teams in isolated settings for prolonged periods. Furthermore, Ov16-based surveillance is not dependent on maintaining highly specialized personnel and infrastructure. Finally, measures of immunologic exposure by detection of specific IgG4 antibodies may be a more sensitive measure to detect indirect transmission occurring

over extended periods (particularly when transmission rates are low) than point estimates of black fly infectivity that may be greatly affected by vector-parasite variability in terms of time and site of sampling. The only previous report of post-certification surveillance was from a former focus in southern Chiapas in Mexico in which $\geq 60\%$ of inhabitants of three communities were examined annually for onchocercomas (with surgical removal of suspicious masses) for 4 years after certification,⁹ another setting where pool screening of black flies was presumably not viable: skin snips were taken from contacts of the only person found to have a viable female adult and from young children in the three communities who had never received ivermectin—the snips were examined by microscopy and O-150 PCR, and were found to be negative. The detection and removal of onchocercomas is time-consuming and expensive and carries the risk of complications relating to a surgical procedure. Ov16-based surveillance is, thus, likely to be preferable as well as being a more sensitive tool for monitoring recrudescence of transmission, albeit indirect, because many adult females are not found in palpable nodules and because of the delay between infection and nodule formation.

In conclusion, we have used Ov16-based serology to monitor potential resurgence of transmission of *O. volvulus* in formerly hyperendemic communities following the certification of elimination of onchocerciasis in Ecuador. Our data

show no evidence of *O. volvulus* transmission since 2009 when MDA was stopped. We believe that Ov16-based surveillance offers practical advantages over measurements of vector infectivity for post-certification surveillance in resource-limited settings.

Received January 30, 2020. Accepted for publication May 22, 2020.

Published online August 24, 2020.

Authors' addresses: Ángel Guevara and Yosselin Vicuña, Instituto de Biomedicina, Carrera de Medicina, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador, E-mails: agguevara@uce.edu.ec and yavicuna@uce.edu.ec. Esteban Salazar, Distrito Calderón Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito, Ecuador, E-mail: essalazar15@gmail.com. Hassan K. Hassan and Thomas R. Unnasch, Center for Global Health Infectious Diseases, University of South Florida College of Public Health, Tampa, FL, E-mails: hassan@usf.edu and tunnasch@usf.edu. Antonio Muro, Infectious and Tropical Diseases Group (e-INTRO), IBSAL-CIETUS (Biomedical Research Institute of Salamanca-Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca), Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Salamanca, Spain, E-mail: ama@usal.es. Ronald Guderian, Hospital Vozandes, Quito, Ecuador, E-mail: r.guderian@frontier.com. Philip J. Cooper, Facultad de Ciencias Médicas, de la Salud y la Vida, Universidad Internacional del Ecuador, Quito, Ecuador, and Institute of Infection and Immunity, St George's University of London, London, United Kingdom, E-mail: pcooper@sgul.ac.uk.

REFERENCES

1. World Health Organization, 2017. Progress report on the elimination of human onchocerciasis, 2016–2017. *Weekly Epidemiol Rec* 45: 681–700.
2. Sauerbrey M, Rakersb LJ, Richards FO Jr., 2018. Progress toward elimination of onchocerciasis in the Americas. *Int Health* 10: i71–i78.
3. Lovato R, Guevara A, Guderian R, Proaño R, Unnasch T, Criollo H, Hassan HK, Mackenzie CD, 2014. Interruption of infection transmission in the onchocerciasis focus of Ecuador leading to the cessation of ivermectin distribution. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e2821.
4. Guevara Á, Lovato R, Proaño R, Rodríguez-Perez MA, Unnasch T, Cooper PJ, Guderian RH, 2018. Elimination of onchocerciasis in Ecuador: findings of post-treatment surveillance. *Parasit Vectors* 11: 265.
5. WHO, 2016. *Guidelines for Stopping Mass Drug Administration and Verifying Elimination of Human Onchocerciasis*. Geneva, Switzerland: World Health Organization. WHO/HTM/NTD/PCT/2016.1.
6. Vieira JC, Cooper PJ, Lovato R, Mancero T, Rivera J, Proaño R, López AA, Guderian RH, Guzmán JR, 2007. Impact of long-term treatment of onchocerciasis with ivermectin in Ecuador: potential for elimination of infection. *BMC Med* 5: 9.
7. Lobos E, Weiss N, Karam M, Taylor HR, Ottesen EA, Nutman TB, 1991. An immunogenic *Onchocerca volvulus* antigen: a specific and early marker of infection. *Science* 251: 1603–1605.
8. Lipner EM, Dembele N, Souleymane S, Alley WS, Prevots DR, Toe L, Boatin B, Weil GJ, Nutman TB, 2006. Field applicability of a rapid-format anti-Ov-16 antibody test for the assessment of onchocerciasis control measures in regions of endemicity. *J Infect Dis* 194: 216–221.
9. Fernández-Santos NA, Unnasch TR, Rodríguez-Luna IC, Prado-Velasco FG, Adeniran AA, Martínez-Montoya H, Rodríguez-Pérez MA, 2020. Post-elimination surveillance in formerly onchocerciasis endemic focus in southern Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 30: e0008008.

3.2

Real-Time Polymerase Chain Reaction Method for the Detection of *Onchocerca volvulus* in Post-Elimination Surveillance of Onchocerciasis in Ecuador

Esteban Salazar, Dirgo Morales, Begoña Febrer-Sendra, Pedro
Fernández-Soto, Julio López-Abán, Paul Quinatoa, Ángel
Guevara, and Antonio Muro

Am. J. Trop. Med. Hyg. 2023; 00(00):1-4

RESUMEN

La detección de *Onchocerca volvulus* en el vector *Simulium exiguum*, mediante la aplicación de la prueba qPCR utilizando la secuencia O-150 en un plásmido como control es útil para confirmar la interrupción de la transmisión. Forma parte del seguimiento de las directrices de evaluación entomológica para la certificación de la eliminación de la oncocercosis. El muestreo se realizó durante el mes de julio que existe mayor actividad y concentración de vectores. Se seleccionó *S. exiguum* por ser el vector más efectivo en la transmisión local de la oncocercosis. Aunque que la técnica es fiable, nos plantea *a priori* varios problemas: falta de disponibilidad del ADN de *O. volvulus* de aislados autóctonos. Con estos antecedentes se procesaron 2950 adutos de tres comunidades en el río Cayapas (San Miguel, El Tigre y Corriente Grande) y una en el río Canandé (El Naranjal), anteriormente hiperendémicas para la oncocercosis en la provincia de Esmeraldas. Nuestros hallazgos revelaron que las tasas de infectividad fueron nulas. En conclusión, hemos utilizado la qPCR para monitorizar el posible resurgimiento de la transmisión de *O. volvulus* en comunidades previamente hiperendémicas tras cinco años de certificación de eliminación de la oncocercosis en Ecuador. Los resultados obtenidos en moscas negras no muestran evidencia de transmisión de *O. volvulus* desde 2009 a 2018, cuando se detuvo la aplicación masiva de ivermectina. Creemos que la vigilancia basada en qPCR es importante para continuar con la práctica en las mediciones de infectividad del vector para la vigilancia post-eliminación de la oncocercosis.

Real-Time Polymerase Chain Reaction Method for the Detection of *Onchocerca volvulus* in Post-Elimination Surveillance of Onchocerciasis in Ecuador

Esteban Salazar,^{1,2,3} Diego Morales,⁴ Begoña Febrer-Sendra,³ Pedro Fernández-Soto,³ Julio López-Abán,^{3*} Paul Quinatoa,⁴ Ángel Guevara,¹ and Antonio Muro^{3*}

¹Instituto de Biomedicina, Carrera de Medicina, Universidad Central, Quito, Ecuador; ²Distrito 17D03 Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito, Ecuador; ³Infectious and Tropical Diseases Research Group, Biomedical Research Institute of Salamanca Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Salamanca, Spain; ⁴Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública Dr. Leopoldo Izquieta Pérez, Quito, Ecuador

Abstract. Onchocerciasis has been declared eliminated in Ecuador and surveillance measures are of great interest. In this study, we examined the infectivity rates of *Simulium exiguum* by *Onchocerca volvulus* in previously hyperendemic areas in Esmeraldas province of Ecuador. These areas had previously undergone mass administration of ivermectin, which led to the interruption of transmission in 2009 and the certification of elimination in 2014. The study included three communities in Río Cayapas and one in Río Canandé, and a total of 2,950 adult *S. exiguum* were collected in 2018. We used quantitative polymerase chain reaction with *O. volvulus* O-150 plasmid control DNA to analyze 59 pools. Our findings revealed that the infectivity rates were zero, indicating that the transmission of *O. volvulus* remained suspended in the area.

Onchocerciasis is a disease caused by the filarial parasite worm *Onchocerca volvulus* known as “river blindness.” It is characterized by the presence of subcutaneous nodules harboring adult parasites and the presentation of a dermatitis that can be extremely severe visual impairment, and in some cases blindness, distributed in foci in the Americas and sub-Saharan Africa.^{1,2} In Latin America, a strategy of periodic mass drug administration (MDA) with ivermectin in the community has led to certification of elimination in endemic foci in Colombia, Ecuador, Mexico, and Guatemala, although transmission is still active in an isolated rainforest focus on the Brazil–Venezuela border.³ In Ecuador, ivermectin was administered annually or biannually to communities in endemic foci in the province of Esmeraldas from 1991 to 2009, when treatments were discontinued after interruption of transmission.^{4,5} Posttreatment surveillance of black flies by polymerase chain reaction (PCR) for *O. volvulus* DNA (using O-150 PCR) in 2012 showed no evidence of active transmission.⁶ Onchocerciasis was certified eliminated in Ecuador in 2014. Measurement of infectivity rates in vectors by O-150 PCR is considered the key indicator for detection of interruption and resurgence of transmission.⁷ Assessment of exposure to *O. volvulus* by detecting antibodies to *O. volvulus*-specific antigen, Ov16, is also useful.^{8,9} This study was designed to determine the entomological indices and infectivity rate of onchocerciasis transmission after 9 years of massive treatment with ivermectin in three communities of the Cayapas river and one community of the Canandé river.

All selected enclaves have hydrological profiles as endemic rainforest areas for onchocerciasis in the province of Esmeraldas, Ecuador.³ Collection of simuliid species was conducted in four communities considered to be previously hyperendemic for onchocerciasis, including San Miguel (0°47'47.2''N 78°55'04.0''W), El Tigre (0°44'17.2''N 78°56'40.2''W), Corriente Grande (0°41'02.0''N 78°57'29.3''W)

and El Naranjal (0°26'43.8''N 79°18'00.7''W) (Figure 1). Sampling was conducted during July 2018, following the guidelines for entomological evaluation for certification of human onchocerciasis elimination.^{10,11} The collection of simuliids was performed by two people by exposing a leg section and collected any black fly landing on leg before it took a blood meal using a mouth aspirator. Collections were carried out from 7:00 AM to 18:00 PM at 1-hour intervals, labeling the day, month, community, and number of flies collected.¹² All specimens collected were stored in 2-mL vials containing 95% ethanol and transported to the Centro de Referencia Nacional de Vectores, of the Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI), for morphological identification according to the taxonomic key of Coscarón and Coscarón.¹³ Each specimen was classified by morphotype and by feeding status (fed or not). For molecular analyses, only individuals identified as *Simulium exiguum* were selected because this species is the main vector of *O. volvulus*. *Simulium quadrivittatum*, a minor vector also present in the area was not included in the study. *Simulium exiguum* pools of 50 individuals were formed in 1.5-mL vials in 95% alcohol. The heads were then separated from the bodies of every insect vector manually with the aid of a stereo microscope, entomological forceps, and dissecting needles. They were also preserved in 95% ethanol. The number of individuals was calculated to be able to detect the possibility of an infectivity rate of one in 2000 uninfected individuals.⁶ DNA extraction was performed with the Wizard SV Genomic DNA Purification System Kit at the University of Salamanca and the NucleoSpin Tissue, Macherey–Nagel kit at INSPI and the analysis was based on PCR O-150. All PCRs were carried out in sets of 59 samples, in rows B–H of a PCR microtiter plate. A volume of 2.5 µL of the purified genomic DNA was used as a template for the PCR amplifications carried out in a total volume of 50 µL containing 0.5 µM of O-150 primer (5'-GAT-TYTTCCGRCGAANARC GC-3') and 0.5 µM of biotinylated O-150 primer (5'-B-GCNRTRTAAATNTGNAAATTC-3'), where B = biotin; N = A, G, C, or T; Y = C or T; and R = A or G). Reaction mixtures also contained 60 mM Tris HCl, pH 9.0, 15 mM (NH₄)₂SO₄, 2 mM MgCl₂, and 0.2 mM each of dATP,

*Address correspondence to Antonio Muro or Julio López-Abán, Institute of Biomedical Research of Salamanca–Center for Research on Tropical Diseases of the University of Salamanca, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, 37007 Salamanca, Spain. E-mails: ama@usal.es or jlaban@usal.es

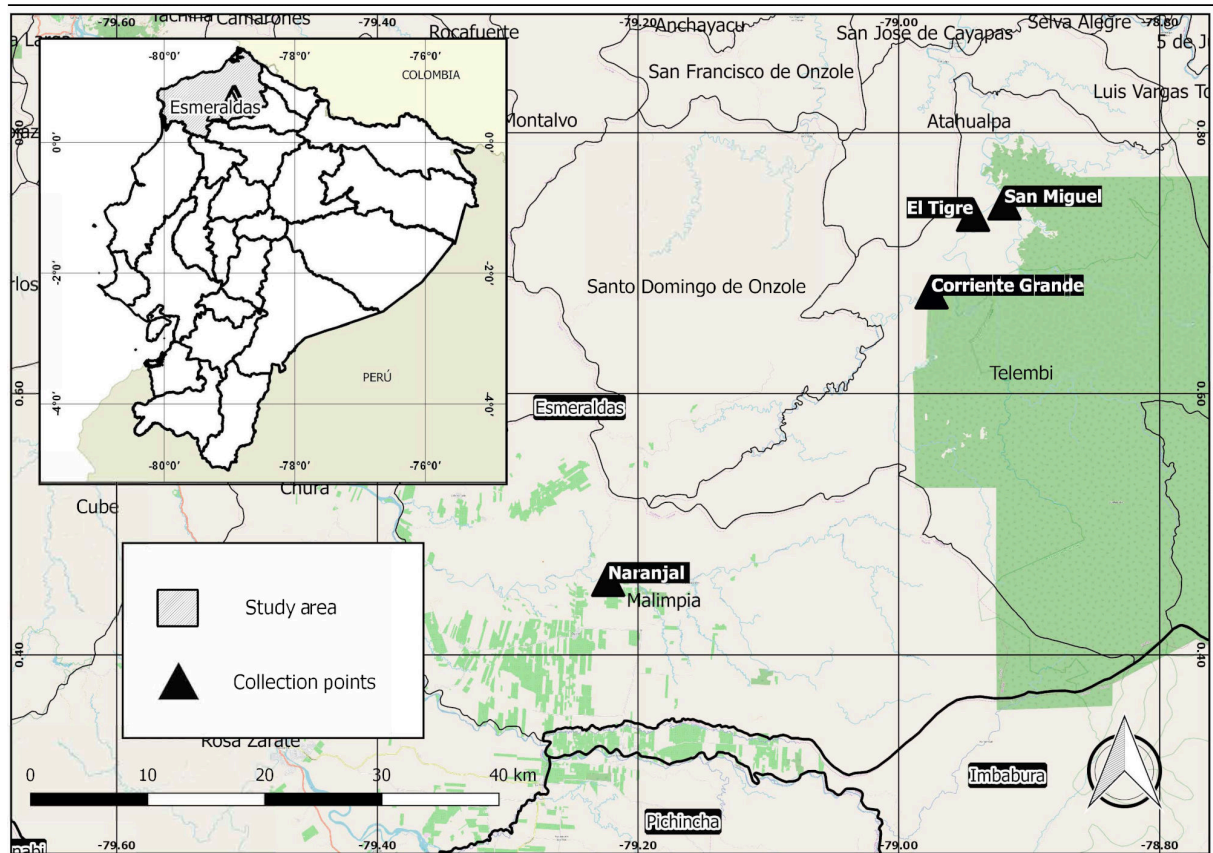


FIGURE 1. Location study communities and *Simulium exiguum* collection sites in former onchocerciasis hyperendemic communities in Esmeraldas's province of Ecuador. This figure appears in color at www.ajtmh.org.

dCTP, dGTP, and dTTP, and 2.5 units of *Taq* polymerase (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN). Cycling conditions consisted of five cycles of 1 minute at 94°C, 2 minutes at 37°C, and 30 seconds at 72°C, followed by 35 cycles of 30 seconds at 94°C, 30 seconds at 37°C, and 30 seconds at 72°C. The reaction was completed by incubation at 72°C for 6 minutes.⁷ An *O. volvulus* O-150 plasmid was used as a positive control. All samples were analyzed in duplicate. The frequency of infective and infected black flies, taken from clusters of black fly heads and bodies, respectively, was determined using the Pool screen algorithm.

Our findings revealed that the frequency of infectious black flies was 0 out of 19 pools in the community El Tigre, 0 out of 14 pools in the community San Miguel, 0 out of 11 pools in the community Naranjal, and 0 out of 15 pools in the community Corriente Grande (Table 1). DNA was extracted from 36 pools in Ecuador and from 23 pools in Spain. No

O. volvulus signal was found in any of the 59 pools analyzed, so the infectivity rate was 0% (Figure 2).

Post-elimination surveillance is carried out following the Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SIVE-Alerta) of the Ministerio de Salud Pública to detect a possible recrudescence. Since its certification, from 2014 to 2018, no cases of onchocerciasis in Ecuador have been reported. In 2018, a serum evaluation study with ELISA test was performed on 123 children aged 5 to 9 years living in four communities (Zapallo Grande, San Miguel, El Tigre, and Corriente Grande) previously considered to be hyperendemic for onchocerciasis in the province of Esmeraldas in Ecuador. All samples were negative, indicating no evidence of transmission of infection.⁸ Molecular assays (quantitative PCR [qPCR]) can be used to monitor the resurgence of *O. volvulus* transmission. It would be expected that there may be the possibility of finding infected flies due to the constant population migration to the Americas region (Brazil and Venezuela) and Africa, areas that are still endemic for onchocerciasis.¹⁴ This study, conducted in communities previously considered hyperendemic for onchocerciasis in Ecuador, which were the last to receive ivermectin MDA in the country, confirms the absence of *O. volvulus* transmission in the communities under study.

Current guidelines for the use of qPCR testing are to confirm interruption of transmission as part of post-treatment surveillance when the results of fly infectivity rates show levels close to the threshold for interruption of transmission. Recommendations for post-elimination surveillance include periodic testing of fly infectivity by O-150 PCR until

TABLE 1
Pool and specimen collection with percentages of *Simulium exiguum* adults in onchocerciasis ex-endemic communities

Ex-endemic communities	Total pools formed	No. of specimens	Percentage
Río Cayapas			
Corriente Grande	15	750	25.4
San Miguel	14	700	23.7
El Tigre	19	950	32.2
Río Canandé			
El Naranjal	11	550	18.6
Total	59	2,950	100.0

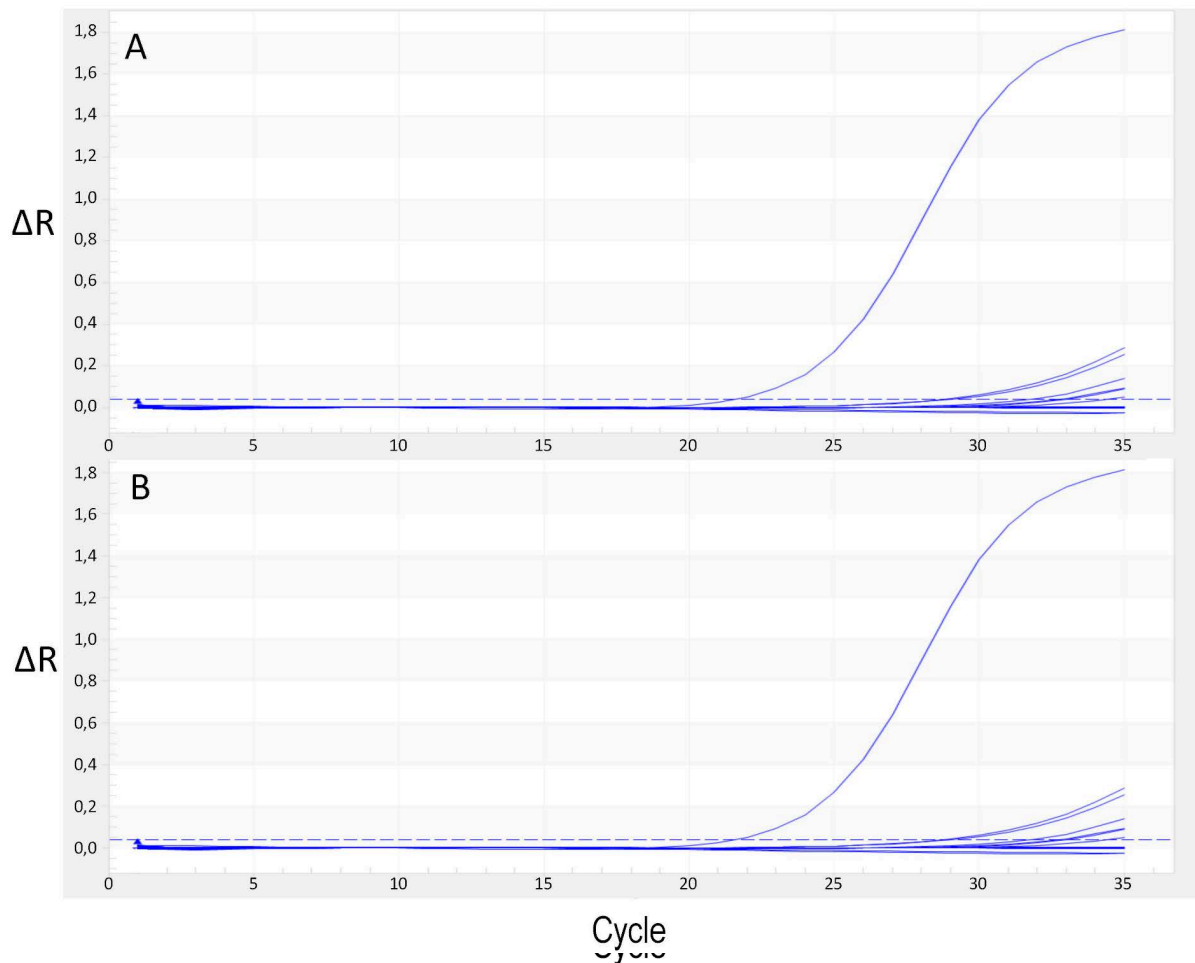


FIGURE 2. *Simulium exiguum* pool samples tested by quantitative polymerase chain reaction using the O-150 sequence showing fluorescence signal over time. (A) Results of the 36 pool samples processed at Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública. (B) Results of the 23 pool samples processed at the University of Salamanca. All pool samples analyzed were negative. The only amplification curve detected in both analyses corresponds to the amplification of the sample used as positive control *Onchocerca volvulus* O-150 sequence in a plasmid. This figure appears in color at www.ajtmh.org.

elimination is verified in all endemic countries in the same region.³ Unfortunately, the unavailability of DNA obtained from native *O. volvulus* is a limitation of our study, which was addressed using the O-150 sequence in a plasmid, which must be taken into account when interpreting the data. However, conducting black fly collections and O-150 PCR after certification of elimination is a challenge for most formerly endemic countries, including Ecuador, with multiple competing demands on scarce health resources: maintaining such capacity requires continued investment in infrastructure and personnel. In the case of the latter, effective vector surveillance requires experience and expertise, as well as historical knowledge of where and when to sample vectors for transmission.¹⁰ In the specific case of Ecuador, after elimination certification, the entomological expertise of the program was lost due to the reassignment or loss of experienced personnel and the lack of an allocated budget for post-certification activities. Therefore, it is important to maintain Ov16 ELISA-based surveillance in humans, accompanied by entomological evaluation (qPCR) regularized in a surveillance protocol to monitor the recrudescence of transmission in onchocerciasis formerly endemic areas.^{2,6}

In conclusion, we have used qPCR to monitor the possible resurgence of *O. volvulus* transmission in previously hyperendemic communities after 9 years of onchocerciasis elimination certification in Ecuador. Results obtained from black flies show no evidence of *O. volvulus* transmission from 2009 to 2018 when MDA was stopped. We believe that qPCR-based surveillance is important to continue the practice on vector infectivity measurements for post-certification surveillance accompanied by Ov16 serological testing.

Received June 30, 2023. Accepted for publication August 8, 2023.

Acknowledgments: We thank the community, INSPI—Ecuador for the collection of the black flies, and IBSAL-CIETUS—Spain for the sample processing.

Financial support: A. M., P. F. S., and J. L.-A. receive funds from Institute of Health Carlos III, ISCIII, Spain (www.isciii.es), grant PI22/01721. J. L.-A. is funded by MCIN/AEI/doi 10.13039/501100011033, cofunded by the European Union, grant PID2021-127471OB-I00. A. M. is funded by MCIN/AEI/doi 10.13039/501100011033, cofounded by the European Union, grant PID2022-136462NB-I00. B. F.-S. was funded by the Predoctoral Fellowship Program of Junta de Castilla y León, cofunded by Fondo Social Europeo (BDNS; 422058).

Authors' addresses: Esteban Salazar, Instituto de Biomedicina, Carrera de Medicina, Universidad Central, Quito, Ecuador, Distrito 17D03 Ministerio de Salud Pública del Ecuador, Quito, Ecuador, and Infectious and Tropical Diseases Research Group, Biomedical Research Institute of Salamanca Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Salamanca, Spain, E-mail: essalazar15@gmail.com. Diego Morales and Paul Quinatoa, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública Dr. Leopoldo Izquieta Pérez, Quito, Ecuador, E-mails: diegomoralesviteri@gmail.com and pquinatoa@inspi.gob.ec. Begoña Febrer-Sendra, Pedro Fernández-Soto, Julio López-Abán, and Antonio Muro, Infectious and Tropical Diseases Research Group, Biomedical Research Institute of Salamanca Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Salamanca, Spain, E-mails: begofebrer@usal.es, pfsoto@usal.es, jlaban@usal.es, and ama@usal.es. Ángel Guevara, Instituto de Biomedicina, Carrera de Medicina, Universidad Central, Quito, Ecuador, E-mail: agguevara@uce.edu.ec.

REFERENCES

- World Health Organization, 2017. Progress report on the elimination of human onchocerciasis, 2016–2017. *Wkly Epidemiol Rec* 45: 681–700.
- Wanji S, Kengne-Ouafo JA, Esum ME, Chounna PWN, Tendongfor N, Adzemye BF, Eyong EE, 2015. Situation analysis of parasitological and entomological indices of onchocerciasis transmission in three drainage basins of the rain forest of South West Cameroon after a decade of ivermectin treatment. *Parasit Vectors* 8: 202.
- World Health Organization, 2022. Progress in eliminating onchocerciasis in the WHO Region of the Americas: advances in reaching the last endemic communities of the South Focus in the Bolivarian Republic of Venezuela. *Wkly Epidemiol Rec* 97: 481–492.
- Vieira JC, Cooper PJ, Lovato R, Mancero T, Rivera J, Proaño R, López AA, Guderian RH, Guzmán JR, 2007. Impact of long-term treatment of onchocerciasis with ivermectin in Ecuador: potential for elimination of infection. *BMC Med* 5: 9.
- Lovato R, Guevara A, Guderian R, Proaño R, Unnasch T, Criollo H, Hassan HK, Mackenzie CD, 2014. Interruption of infection transmission in the onchocerciasis focus of Ecuador leading to the cessation of ivermectin distribution. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e2821.
- Guevara A, Lovato R, Proaño R, Rodríguez-Pérez MA, Unnasch T, Cooper PJ, Guderian RH, 2018. Elimination of onchocerciasis in Ecuador: findings of post-treatment surveillance. *Parasit Vectors* 11: 265.
- Rodríguez-Pérez MA, Lilley BG, Domínguez-Vázquez A, Segura-Arenas R, Lizarazo-Ortega C, Mendoza-Herrera A, Reyes-Villanueva F, Unnasch TR, 2004. Polymerase chain reaction monitoring of transmission of *Onchocerca volvulus* in two endemic states in Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 70: 38–45.
- Guevara A, Salazar E, Vicuña Y, Hassan HK, Muro A, Guderian R, Cooper PJ, Unnasch TR, 2020. Use of Ov16-based serology for post-elimination surveillance of onchocerciasis in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg* 103: 1569–1571.
- Lipner EM, Dembele N, Souleymane S, Alley WS, Prevots DR, Toe L, Boatin B, Weil GJ, Nutman TB, 2006. Field applicability of a rapid-format anti-Ov-16 antibody test for the assessment of onchocerciasis control measures in regions of endemicity. *J Infect Dis* 194: 216–221.
- World Health Organization, 2000. *Criteria for Certification of Interruption of Transmission/Elimination of Human Onchocerciasis*. Geneva, Switzerland: WHO.
- World Health Organization, 2001. *Certification of Elimination of Human Onchocerciasis: Criteria and Procedures*. Geneva, Switzerland: WHO.
- Shintouo CM, Nguve JE, Asa FB, Shey RA, Kamga J, Souopgui J, Ghogomu SM, Njemini R, 2020. Entomological assessment of *Onchocerca* species transmission by black flies in selected communities in the West Region of Cameroon. *Pathogens* 9: 722.
- Coscaron S, Corcaron CL, 2007. *Simuliidae Neotropical (Diptera: Insecta)*. *Aquatic Biodiversity of Latin America*. Sofia, Bulgaria: PenSoft Publishers.
- Fernández-Santos NA, Unnasch TR, Rodríguez-Luna IC, Prado Velasco FG, Adeniran AA, Martínez-Montoya H, Rodríguez Pérez MA, 2020. Post-elimination surveillance in formerly onchocerciasis endemic focus in southern Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 30: e0008008.

3.3

Four decades of struggle to eliminate onchocerciasis from Ecuador

Esteban Salazar, Julio López-Abán, Ana García-Mingo, Carlos Torres, Ángel Guevara, and Antonio Muro

RESUMEN

La infección por *Onchocerca volvulus* se considera eliminada en Ecuador desde 2014 y actualmente se encuentra en situación de vigilancia. El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de las estrategias de control aplicadas durante cuatro décadas de duración en un área de alta transmisibilidad y estudiar la posible reemergencia y el riesgo de propagación geográfica de la enfermedad como consecuencia de la migración de la población. Se utilizaron datos del Ministerio de Salud Pública (MSP), del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) y del Programa Nacional de Eliminación de la Oncocercosis del Ecuador (PNEO) con limitaciones en la obtención de registros anuales y publicaciones en las que consten las estrategias de control de la oncocercosis en el Ecuador. Se monitorearon un total de 119 comunidades, abarcando una población de 1.085.921 individuos. En el periodo 1985 a 2009, el PNEO estima que 18.979 personas habían migrado, cuando aún la enfermedad era endémica. De esta investigación se derivan varias conclusiones: (i) las estrategias de control aplicadas en el Ecuador fueron efectivas para la eliminación de la oncocercosis, (ii) Ecuador mantiene actualmente un bajo riesgo de expansión de la enfermedad por el efecto de la migración desde zonas endémicas, (iii) Ecuador debe gestionar eficazmente el riesgo de resurgimiento de la *O. volvulus*, por lo que se recomienda insistentemente disponer de un plan de contingencia con una vigilancia especializada post-eliminación que integre una prueba basada en Ov16 en la detección de la infección en personas y qPCR basada en la secuencia O-150 para vectores. Este plan debe incluir la creación de una reserva emergente de ivermectina para su uso como medida de tratamiento preventivo.

Four decades of struggle to eliminate onchocerciasis from Ecuador

Journal:	<i>American Journal of Tropical Medicine & Hygiene</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Research Paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	SALAZAR, ESTEBAN; Ministerio de Salud Publica de Ecuador, Distrito Calderón; Universidad Central del Ecuador, CIENCIAS MEDICAS; Universidad de Salamanca Facultad de Farmacia, Infectious and Tropical Diseases Group (e-INTRO), IBSAL López-Abán, Julio; University of Salamanca, Parasitology García-Mingo, Ana; Whittington Health, London, UK, Research Torres, Carlos; Lions Club Villaflora, Quito, Ecuador, Clinica GUEVARA, ÁNGEL; Universidad Central del Ecuador, BIOMEDICINE Muro, Antonio; University of Salamanca, Parasitology
Key Words:	Onchocerca volvulus, Onchocerciasis, elimination program, ivermectin, mass administration, Migration, Epidemiology

Four decades of struggle to eliminate onchocerciasis from Ecuador

Esteban Salazar^{1,2,3}, Julio López-Abán^{2*}, Ana García-Mingo⁴, Carlos Torres⁵, Ángel Guevara³, Antonio Muro^{2*}

¹District 17D03 - Health, Ministry of Public Health of Ecuador, Quito, Ecuador.

²IBSAL-CIETUS (Institute of Biomedical Research of Salamanca-Center for Research on Tropical Diseases of the University of Salamanca), School of Pharmacy, University of Salamanca, Salamanca, Spain.

³Institute of Research in Biomedicine, Faculty of Medical Sciences, Central University of Ecuador, Quito, Ecuador.

⁴Whittington Health, London, UK.

⁵Lions Club Villaflora, Quito, Ecuador.

Running head: Struggle to eliminate of onchocerciasis from Ecuador

Key words: *Onchocerca volvulus*. Onchocerciasis, elimination program, ivermectin mass administration, Migration, Epidemiology

Word counts: Abstract: 250 words. Text: 3,675 words.

Figures and Tables: Figures 2 and Table 3

* Address correspondence to Antonio Muro or Julio López-Abán, Institute of Biomedical Research of Salamanca–Center for Research on Tropical Diseases of the University of Salamanca, Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, Salamanca, Spain. E-mails: ama@usal.es or jlaban@usal.es.

25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

Abstract

Onchocerciasis was an important health problem in specific regions of Ecuador, particularly within the Chachi and Afroecuadorian communities, until the year 2014. The aim of this study was to assess the impact of a four-decade-long control program in a high transmission area. Subsequent surveillance program and the potential geographical spread of the disease resulting from population migration were revised. We conducted a retrospective epidemiological study of reported cases of onchocerciasis in Ecuador. We used data from the Ministry of Public Health (MSP), the National Institute of Statistics and Censures (INEC) and the National Onchocerciasis Elimination Program of Ecuador (PNEO). A total of 119 communities were monitored, encompassing a population of 1,085,921 individuals. During the period of 1985-1989, the disease exhibited a high incidence rate of 520.2 cases per 10,000 inhabitants. In 1990, a Mass ivermectin administration (MIA) program was officially started and continued for 15 years, achieving coverages rates from 85.7 to 92.6%. Incidence eventually decreased to zero in 2005 and MIA was continued until 2009. People from endemic area migrated to non-endemic areas of Ecuador (96.4%) and other countries (3.6 %) introducing the possibility of individuals carrying the infection to new locations. The control strategies which combined community care intervention and MIA in Ecuador proved successful in eliminating transmission in 2009 and certification of elimination was achieved in 2014. Fluent communication between PNEO and local communities in the endemic region has allowed and facilitated an understanding of the migratory patterns, raising concerns about the potential dissemination of the disease.

51 **Introduction**

52 Onchocerciasis is a parasitic infection caused by the filarial nematode *Onchocerca*
53 *volvulus*. This disease is primary is transmitted through the bites of black flies belonging to the
54 *Simulium* genus, which are commonly found in well fast-flowing oxygenated rivers and
55 streams, mainly *S. exiguum* in Ecuador. ^{1,2} The female *O. volvulus* measures 35-70 cm in
56 length while the males are 2.5 cm long. As a part of its life cycle, microfilariae that are released
57 and can infiltrate various organs, including skin and eyes. ³⁻⁸ The symptoms of onchocerciasis
58 involve skin with severe itching of the skin, and ocular damage that can result in visual
59 impairment or even blindness. ^{9,10} Infection in Ecuador causes onchodermatitis with
60 erythematous maculo-papular erythematous rash, micro abscesses, intense pruritus, crawl-
61 crawl, macular depigmentation, lichenification or thickening of the skin, elephant skin, skin
62 depigmentation, hyper-reactive dermatitis or sowda, scrotal elephantiasis, hydrocele,
63 onchocercomas of the head, thorax, iliac crest, lumbar region, sacrum and ocular damage,
64 including visual impairment and, in some cases, even blindness. The initial documented cases
65 of onchocerciasis were reported in Ghana in 1893 by Leuckart and in Guatemala in 1915 by
66 Rodolfo Robles. ^{5,11,12} In Ecuador, the first recorded case of onchocerciasis dates back to 1953
67 when it was reported by León and Wygodzinsky. Subsequently, in 1977 Ronald Guderian
68 documented new cases in local publications. In 1980, Carvajal and Zerega described the
69 disease in an indigenous patient from the El Tigre community in the Cayapas River area in the
70 Province of Esmeraldas. While the most clinical cases, approximately 99%, are currently found
71 in sub-Saharan Africa, smaller foci also exist in America and Yemen. ^{7,9}

72 The scientific community recognizes the significance of vector control as an important
73 tool in the prevention of onchocerciasis transmission. ¹³ Historical efforts in this regard include
74 vegetation elimination in *Simulium* breeding areas from 1932 to 1944, with varying levels of
75 success. Mexico employed this method from 1932 to 1940 without apparent observable
76 effects. In the Congo (Zaire) river, similar measures took place from 1942 to 1944, yielding
77 scarce results, while in the Kondera district in Kenya in 1943, vegetation elimination succeeded

78 in eradication of *Simulium neavei* in small onchocerciasis outbreaks.¹⁴ Subsequently, from
79 1944 onwards vector control primarily relied on larvicide application as the main strategy in
80 Africa, albeit with inconsistent results.¹³ Various chemical larvicides such as paris green,
81 sodium, calcium chloride and creoline were used, but effectiveness was often limited. The
82 combination of creoline and chloride was effective but showed adverse reactions in human
83 beings. From 1944 to 1971 dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) was employed in
84 onchocerciasis foci in Kenya, Congo, Uganda, Ghana, Nigeria, Chad, Cameroon, Sierra
85 Leone, Benin, Guinea Bissau, Burkina Faso, Mali and Ivory Coast, resulting in reduced biting
86 rates but with rapid reinfestation of rivers. Mexico used DDT from 1954 to 1968, while
87 Guatemala employed it from 1952 to 1953.¹⁵ In 1972, temephos replaced DDT in the Sanaga
88 River region from Cameroon and from 1975 until 1992 it was used in Benin, Burkina Faso,
89 Ivory Coast, Mali, Togo, Nigeria, Guinea Bissau, Senegal, Sierra Leone, Sudan, Malawi,
90 leading to reduced biting rates and onchocerciasis transmission.¹⁵ The establishment of the
91 World Health Organization (WHO) Onchocerciasis Control Program (OCP) in 1974, had a
92 significant impact in disease control. The program prevented 40 million individuals from
93 becoming infected, averted blindness in 600,000 people, and ensured that 18 million children
94 were born without the threat of blindness and developing the disease.¹⁰ In Ecuador, the
95 National Onchocerciasis Elimination Program (PNEO) was initiated in 1980. Over time, the
96 program adopted various strategies including nodulectomies, systemic and local application of
97 chloroquine, suramin, diethylcarbamazine and eventually ivermectin in 1990.¹ The approach
98 to onchocerciasis control evolved into a strategy focused on regular semi-annual mass
99 ivermectin administration (MIA) to all eligible individuals in endemic communities.¹³

100 The timelines for eliminating neglected tropical diseases (NTDs) are considerably shorter
101 than the millennia during which these diseases have plagued communities. Yet, within our
102 lifetimes, various countries with international help have successfully eliminated such tropical
103 neglected diseases (NTD) through targeted and concerted public health campaigns.¹⁶ The
104 Onchocerciasis Elimination Program for the Americas (OEPA) stands a shining example of

105 success, having effectively interrupted onchocerciasis transmission in four American
106 countries.¹⁰ Notably, in 2013, Colombia achieved the distinction of becoming the first country
107 worldwide to be verified as free of onchocerciasis transmitted by *Simulium exiguum*. This was
108 reached after 12 years of semiannual MIA to all eligible residents in the endemic area.^{17,18}
109 Ecuador earned its certification in 2014, transitioning into a surveillance phase with case
110 reporting entrusted to the National Surveillance System SIVE-Alert of the Ministry of Public
111 Health (MSP).^{19,20} In 2015, Mexico followed suit, becoming the third country globally to
112 declared onchocerciasis-free. This achievement was the result of a decade of biannual
113 ivermectin treatment in the smallest focus, 13 years of biannual treatment the second-largest
114 focus located north of Chiapas, Oaxaca. Finally, 17 years of biannual and quarterly treatment
115 in the largest focus in the south of Chiapas.⁸ Guatemala emerged as the fourth American
116 country to receive WHO verification for eliminating onchocerciasis transmission, after a
117 century-long war against this parasitic infection.²¹ Nevertheless, residual foci of
118 onchocerciasis persist along the border of Brazil and Venezuela in small nomadic
119 communities.^{9,22} OEPA program faces complex challenges in addressing the Yanomami
120 population residing within the rainforest of the Amazon and Orinoco River basins. These
121 communities are characterized by highly mobility, inhabit hard-to-reach areas and face a
122 considerable risk onchocerciasis infection. Effectively addressing this issue necessitates a
123 collaborative effort between Brazil and Venezuela given that the rainforest highlands span both
124 countries.^{10,23} Today, these nations face challenges of maintaining their elimination status to
125 prevent the resurgence of the disease and monitoring the potential spread of onchocerciasis
126 due to migration from previously affected areas.²⁴

127 This paper presents a historical examination of the strategies employed to control
128 onchocerciasis in the endemic foci and assesses the potential for the disease to resurge and
129 extend beyond its former endemic territories within the provinces of Esmeraldas and Santo
130 Domingo de los Tsáchilas of Ecuador.

132 **Material and methods**

133 **1. Study Area**

134 The onchocerciasis foci within the Santiago River Basin of Esmeraldas Province were,
135 shaped by the convergence of three major river systems: Río Cayapas, Río Santiago and Río
136 Onzole.^{25,26} Additionally, satellite endemic foci were identified along distinct river systems,
137 including five foci in the rivers Canandé, Verde, Viche, Sucio and Tululví. There was also a
138 smaller focus situated in the province of Santo Domingo de los Tsáchilas.²⁷ This region is
139 characterized by dense tropical forests and experiences an annual rainfall of up to 8000 mm.
140 The vectors responsible for transmitting the nematode, *Simulium exiguum* and *Simulium*
141 *quadrivittatum* breed on rocks and vegetation along swiftly flowing rivers, with the peak activity
142 in terms of biting occurring between the months of April and June.^{12,28} The endemic zone of
143 onchocerciasis encompassed a total of 119 communities, each exhibiting varying levels of
144 prevalence: 42 were highly endemic, 23 were mesoendemic and 54 were hypoendemic.²⁹

145 **Data source of incidence and coverage of onchocerciasis**

146 In 1980, following the identification of the first documented case in the Province of
147 Esmeraldas, the MSP establish the PNEO. Subsequently, approximately 11 epidemiological
148 surveys were conducted to delineate the boundaries of the endemic area and assess infection
149 prevalence within each community. The methodology used in these epidemiological surveys
150 encompassed the detection of microfilariae in skin biopsies, the Mazzotti test, PCR-ELISA and
151 rapid epidemiological evaluation (RAE) techniques.³⁰ Data for this study was retrospectively
152 collected based on clinical information provided by local physicians, to the PNEO under the
153 MSP. Data was obtained through the revision of archived paper records from the PNEO
154 focusing on confirmed or diagnosed cases of onchocerciasis in endemic communities and
155 population, along with population estimates spanning from 1980 to 2019 were sourced from
156 the National Institute of Statistics and Censuses (INEC).

157 **Health intervention records of nodulectomies and drug use against**
158 **onchocerciasis.**

159 The PNEO started its activities in 1983, commencing with regular nodulectomy
160 campaigns held on a monthly and yearly basis. Subsequently, oral chloroquine as well as local
161 infiltrations of chloroquine into nodules, to reduce the parasite load. On occasion, suramin was
162 employed, albeit not as a part of a widespread campaign. The evaluation of
163 diethylcarbamazine for onchocerciasis prevention was also undertaken. Finally, in 1990,
164 ivermectin was introduced as a treatment option, initially through a clinical trial targeting
165 individuals with microfilariae. Over time, the standard protocol established two annual doses
166 of ivermectin. A comprehensive record of the number of treatments administered per inhabitant
167 was meticulously maintained within the in PNEO and MSP.

168 **Community care interventions in endemic area of onchocerciasis.**

169 Between 1981 and 1983, the MSP in coordination with the Apostolic Vicariate of
170 Esmeraldas established a comprehensive healthcare plan. This plan ensured the ongoing
171 training of 22 community health care workers, fostering a process of community participation
172 centered on the identification, intervention and evaluation of local health issues. Educational
173 activities were designed to raise awareness among the population regarding the disease and
174 its most severe consequences, particularly blindness and to promote adherence to treatment.
175 Over time, community leaders and nursing assistants were also integrated into these
176 programs. Through the involvement of all these stakeholders, a multidisciplinary intervention
177 with a community-based epidemiology approach was refined to effectively local health
178 challenges.

179 **Demographic study of migratory movements from the endemic area**

180 A demographic analysis was carried out by PNEO of the region to allocate resources for
181 comprehensive population coverage. Detailed records were maintained by the INEC,

182 documenting the number of treatments administered per inhabitant, as well as data on
183 absentees, internal migrants, external migrants, patients and pregnant women.

184 **Data analysis**

185 The annual coverage of the MIA was assessed every six months using data derived from
186 the INEC population registry and treatment records maintained PNEO. These data were
187 expressed in percentages. The identification of newly confirmed onchocerciasis cases within
188 the entire population, as well as by cantons and localities were calculated per 10000
189 inhabitants based on records from PNEO. Migration patterns, categorized into age groups with
190 a five-year interval, were analyzed over the past two decades. Statistical packages was
191 conducted using software packages such as SPSS and Tableau to compute and visually
192 represent incidence rates.

193 **Results**

194 **Decrease of incidence of onchocerciasis with massive ivermectin administration**

195 Over the course of 20 years encompassing MIA and surveillance program, there has
196 been a marked reduction in the incidence of onchocerciasis. The data suggest the highly
197 effective nature of ivermectin leading to noticeable reductions in every five years. Prior to the
198 implementation of MIA, onchocerciasis was a prevalent issue in Ecuador, with peak incidence
199 of 520.2 cases per 10000 individuals reported between 1985 and 1989, predominantly
200 concentrated in the province of Esmeraldas (Figure 1). From 1990 to 1994 the spread of
201 onchocerciasis extended into the province of Santo Domingo de los Tsáchilas. However, by
202 the year 2000, a significant decline in incidence was observed, resulting in a decrease of 2.6
203 cases per 10,000 inhabitants, which was sustained at a minimum level over time (Figure 1).
204 The Eloy Alfaro canton within the province of Esmeraldas experienced the highest impact, with
205 an incidence rate of 2,643.3 cases per 10,000 inhabitants during the years 1985-1989.
206 Nevertheless, this area exhibited a substantial decline in incidence after 2005. Conversely, the
207 first cases in the Santo Domingo de los Tsáchilas canton were identified in 1995, but by 2000,

208 a significant decrease had become evident (Table 1). Following 15 years of regular biannual
 209 administration of ivermectin, with an average coverage of 92.6% between 2005 and 2009, the
 210 incidence of onchocerciasis reached zero (Figure 1). The process towards the onchocerciasis
 211 elimination in Ecuador began with the mapping the endemic area and stabilizing MDI practices,
 212 which ultimately leading to transmission suppression. Phase 2 continued MDI application,
 213 alongside epidemiological, serological and entomological surveys of simulides, resulting in
 214 transmission interruption for a period of 3 to 5 years. Phase 3 entailed ongoing entomological
 215 surveillance to confirm parasite transmission elimination. Finally, in 2014, Ecuador achieved
 216 certification from PAHO/WHO for onchocerciasis elimination.

217
 218 **Table 1.** Epidemiological distribution by number of cases and incidence rate of
 219 onchocerciasis per 10000 inhabitants by cantons from 1980 to 2019.

Province	Canton	Years																
		1980-1984		1985-1989		1990-1994		1995-1999		2000-2004		2005-2009		2010-2014		2014-2019		Total
		Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	
Esmeraldas	Eloy Alfaro	2081	829.6	7174	2643.3	-	-	22	6.8	34	9.4	0	0	0	0	0	0	9311
	Muisne	22	12.4	105	43.6	10	3.6	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	137
	Quinindé	84	17.6	465	69.4	-	-	16	1.8	1	0.1	0	0	0	0	0	0	566
	Río Verde	26	45.0	66	54.5	-	-	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	92
	San Lorenzo	32	13.6	224	92.9	176	65.5	6	2.1	-	-	0	0	0	0	0	0	438
	Total	2245	183.3	8034	520.2	186	34.2	44	2.9	35	2.6	0	0	0	0	0	0	10544
Santo Domingo de los Tsáchilas	Santo Domingo de los Tsáchilas	-	-	-	-	-	-	151	5.3	-	-	0	0	0	0	0	0	151
	Total	-	-	-	-	-	-	151	5.3	-	-	0	0	0	0	0	0	151
Total		2245	183.3	8034	520.2	186	34.2	195	4.4	35	2.6	0	0	0	0	0	0	10695

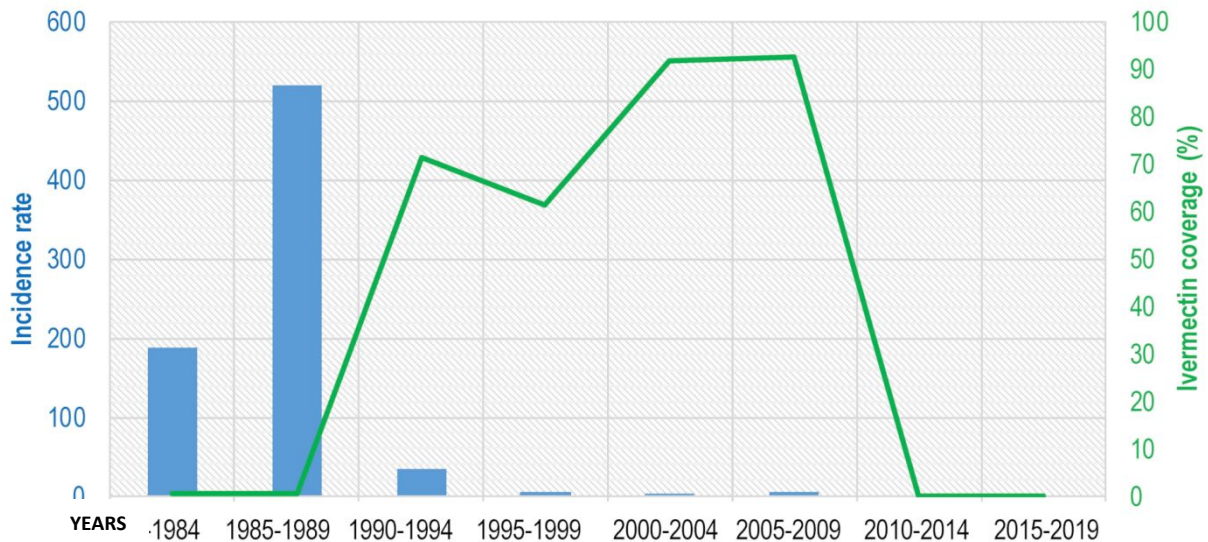


Figure. 1. Incidence rate and mean coverage of two doses of mass ivermectin administration (MIA) between 1980 and 2019 in communities in the onchocerciasis-endemic areas of Esmeraldas and Santo Domingo de los Tsáchilas in Ecuador.

Community care interventions in endemic area of onchocerciasis

Over a period of 26 years, approximately 20000 nodulectomies were documented in hyperendemic regions. ¹ Additionally, chloroquine was administered orally to 175 individuals with nodules from 1986 to 1991. In 1997, chloroquine was also locally applied through infiltrations to nodules infiltrations in individuals with microfilariae of less than one year of evolution (Table 2). Clinical trials started in 1987, involving intravenous suramin and oral diethylcarbamazine treatments for patients with nodules in Ecuador. These interventions, unfortunately, resulted in significant discomfort for the patients. Systemic suramin treatment showed high toxicity, while diethylcarbamazine induced severe cutaneous rash.

Health promoters have played a leading role in addressing the problem of onchocerciasis issue for 33 years, contributing significantly to its eventual elimination. Each health promoter was responsible for covering specific areas, including 6173 km² in the Cayapas River region, 3,265 km² in the Santiago River, and 853 km² in the Onzolé River; with an average area of 3430 km². Annually, they carried out a minimum of six nodule evaluations, conducted two

240 updates of population census and administered two rounds of ivermectin in each community
 241 involving an average of 4.6 individual visits for MIA application between 1994 and 2009.
 242 Regular monthly meetings were held to enhance health education and communication
 243 regarding essential collective care practices, with a total of 15 meetings conducted. These
 244 health promotion and onchocerciasis control activities contributed to maintaining treatment
 245 adherence and fostering a shared vision within the framework of the PNEO's control efforts.

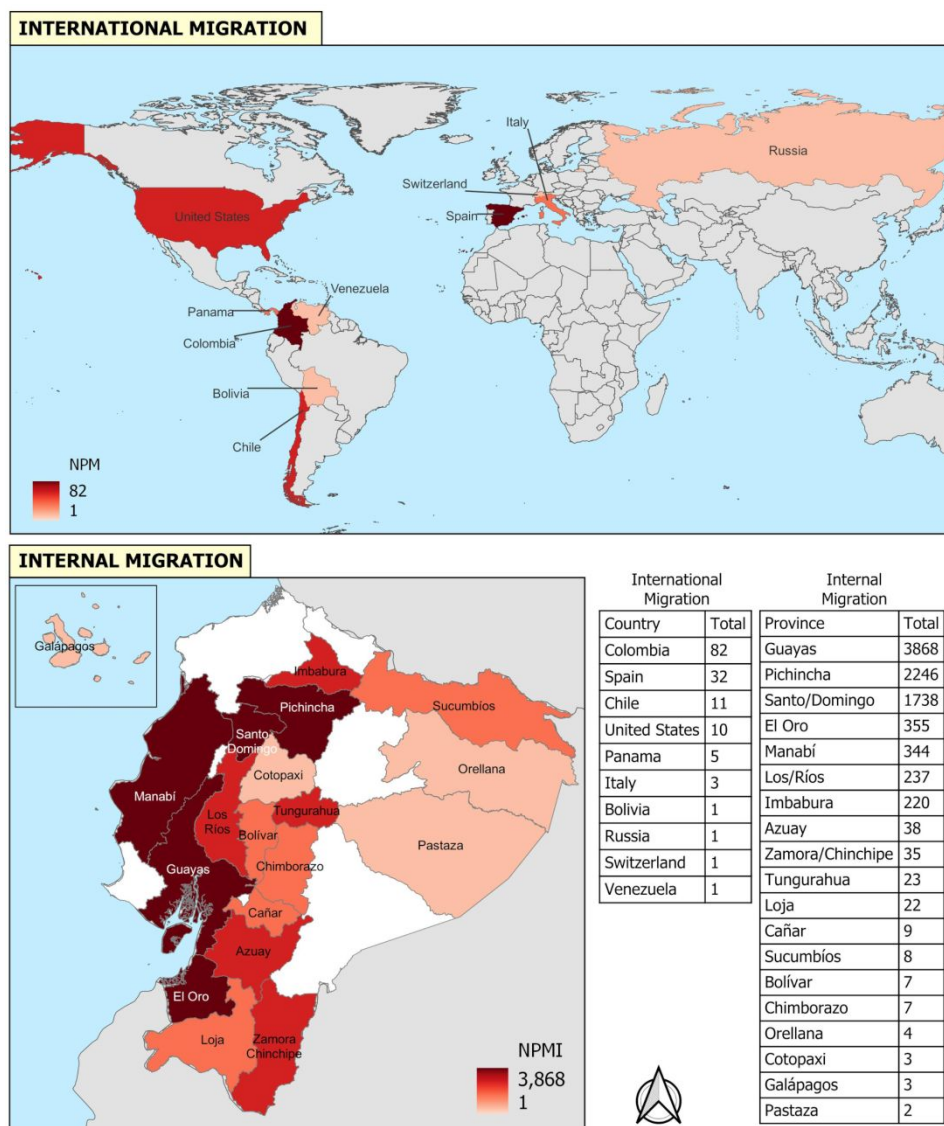
246
 247 **Table 2.** Historical interventions for control against onchocerciasis in the community
 248 before mass ivermectin administration (MIA) from 1980 to 2009. The number of patients and
 249 adverse effects are recorded.

Intervention		Years									Adverse effects
		1980	1986-1991	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	
Nodulectomy	Identified nodules	-	-	110	120	90	30	30	32	0	Recurrence
	Excised nodules	-	-	65	100	50	23	20	21	0	
	Confirmed onchocerciasis	-	-	25	40	32	15	2	0	0	
Chloroquine	Systemic treatment	-	25	-	-	-	-	-	-	-	Toxicity
	Nodule infiltration	-	36	-	-	-	-	-	-	-	
	Placebo	-	36	-	-	-	-	-	-	-	

250 251 **Potential spread risk due to migrations from endemic areas**

252 According to PNEO calculations, a total of 18979 individuals migrated from endemic
 253 communities, with the majority (96.4%) relocating within the same provinces of Esmeraldas
 254 and Santo Domingo de los Tsáchilas. Additionally, 21.2% and a 12.3% of the migrants chose
 255 to settle in Guayas and Pichincha provinces of Ecuador, respectively. Among these migrants,

256 148 individuals ventured to other countries, with Colombia (55.4%) and Spain (21.6%) being
 257 the primary destinations. The remaining 23% dispersed to various countries worldwide
 258 (Figure 1). Analysis of the population at risk revealed that 27.2% of the migrant population
 259 were under 10 years-old, during the period from 2001 to 2009 when onchocerciasis was still
 260 present in the provinces of Esmeraldas and Santo Domingo de los Tsachilas. Given their
 261 young age, it is probable that they carried the *O. volvulus* infection with them, as they were
 262 ineligible for ivermectin treatment or diagnostic testing for onchocerciasis (Table 3).



263
 264 **Figure 2.** International and internal population migration from endemic areas of
 265 onchocerciasis within Ecuador and other countries, from 2001 to 2009.

Table 3. Number of inhabitants and percentages (%) migrating from onchocerciasis endemic areas in Ecuador by age groups from 2001 to 2009.

Age groups(years)	National migration(%)	International migration (%)	Total migration (%)
<10	5132 (27.3)	28 (18.9)	5160 (27.2)
10 - 19	6397 (34.0)	34 (23.0)	6431 (33.9)
20 - 49	5915 (31.4)	71 (48.0)	5986 (31.5)
>50	1387 (17.4)	15 (10.1)	1402 (7.4)
Total	18.83 (100)	148 (100)	18979 (100)

Discussion

We present valuable insights gained from four decades of onchocerciasis control initiatives in Esmeraldas and Santo Domingo de los Tsáilas provinces, drawing from the records maintained by PNEO, MSP, and INEC of Ecuador. The early intervention involved an assessment of the epidemiological landscape, followed by nodulecomies and the administration of chloroquine, suramin and diethylcarbamazine during the 1980s. Subsequently, an effective MIA program was established leveraging the existing health promotion network. Following the certification of elimination in 2014. A comprehensive notification plan remained in place through the MSP's SIVE-ALERTA system. Our focus extends to addressing concerns regarding the potential resurgence of onchocerciasis within *Simulium*-endemic regions and the spreading of its spreading beyond the original foci due to human migration.

Over the years, transmission has been successfully interrupted in 11 countries and eliminated in four countries.³¹ Currently, the disease persists in isolated pockets, particularly among nomadic Amerindian communities residing in remote regions along the border of Brazil and Venezuela, as well as in 31 African countries where it remains a significant health concern.^{21,32,33} In the case of Ecuador the MIA was established in 1990, capitalizing on the existing infrastructure of the PNEO network. This initiative was a collaborative effort involving the healthcare services of the MSP and local health promotion agents supported by the

288 Vicariate of Esmeraldas. In other endemic areas where infection has been successfully
289 eliminated, well-organized health structures have played determinant role, demonstrating
290 continuity in countries such as Colombia, Mexico, Guatemala, Uganda and Sudan. ^{17,34}
291 However, it is worth noting that in areas where the infection persists, challenges related to
292 incomplete socio-sanitary networks and socio-political instability have been observed. These
293 regions include Venezuela, Brazil, Yemen South Sudan, the Central African Republic, Angola,
294 Ivory Coast and the Democratic Republic of Congo⁹. Initial attempts involving nodulectomies
295 and the application of chloroquine, suramin, or diethylcarbamazine were not effective in
296 significantly reducing the incidence of new cases and promoting healing. Additionally, a
297 substantial number of adverse effects were reported during these early interventions. ¹

298 The critical role of local health-promoting agents during the MIA period cannot be
299 overstated, as they played a decisive role in achieving an impressive coverage rate of over
300 85% within the susceptible population. These agents were instrumental in raising awareness
301 about onchocerciasis and implementing regular biannual campaigns. These efforts not only
302 directly contributed to the disruption of onchocerciasis but also proved instrumental in
303 modifying risk behaviors and promoting overall health within extremely remote communities.
304 Their educational activities, including the organization of informative events and community
305 assemblies, proved invaluable in facilitating access to primary healthcare services in these
306 remote communities ¹. Furthermore, the long-term implementation of the MIA program yielded
307 additional noteworthy benefits, who played a role in controlling other non-communicable
308 diseases and improving overall health, addressing diseases such as arterial hypertension,
309 diabetes, pulmonary tuberculosis, epilepsy, malnutrition, morbidity care, growth monitoring for
310 children under five years old and ensuring proper care for pregnant women, application of
311 vaccination schedules.

312 Despite the successful elimination of the infection, the MSP of Ecuador maintains
313 surveillance programs for onchocerciasis as notifiable disease by recruiting patients attending
314 health centers in previously endemic regions. At present, it remains imperative to implement a

315 continuous surveillance schedule. This included monitoring of subcutaneous nodules or
316 suspicious masses in patients. ³⁵ Furthermore, surveillance programs should incorporate
317 regularly scheduled prospective serological surveys using the Ov16 antigen in ELISA-based
318 techniques. ³⁶ In the same way, entomological assessments utilizing qPCR with the O-150
319 sequence through routine collections of simuliids are decisive for monitoring any potential
320 recrudescence of onchocerciasis transmission. ³⁷ To effectively manage the risk of resurgence,
321 it is strongly recommended to have a contingency plan in place. This plan should encompass
322 the establishment of an emergence stock of ivermectin for use as a preventive treatment
323 measure.

324 Migration from onchocerciasis-endemic areas can potentially lead to the emergence of
325 previously silent infections acquired during childhood when transmission was active in the
326 receiving countries. This scenario raises concerns about re-emergence and spread of infection
327 to regions with adequate populations of *Simulium* vectors. However, our data suggest that the
328 risk is low, if not remote. Several factors contribute to this assessment, including the relatively
329 small number of emigrants, their prior treatment with ivermectin before migration and the
330 limited *Simulium* activity in both the receiving areas within Ecuador and other countries. ^{10,38}
331 Currently, the primary challenge lies in establishing an effective surveillance protocol in
332 Ecuador, particularly given the dispersed nature of the population²⁹. It is worth noting that the
333 established network of health promotion agents would maintain the beneficial effects on health
334 education and the provision of essential healthcare services in remote communities.

335 This study highlights the successful alignment of the onchocerciasis elimination program
336 with the Ministry of Health, the affected communities, local governments and various social
337 agents. Through this collaborative effort, the program achieved its goal of eliminating
338 onchocerciasis in Esmeraldas and Santo Domingo de los Tsachilas provinces. By analyzing
339 demographic data from people who have migrated from the endemic areas to regions without
340 vector infection, the possibility of expansion seems quite limited.

341

Acknowledgments:

Asociación Amigos del Cayapas – Cayapa pi chulla kumani. Salamanca, España.

Financial support: AM and JL-A receive funds from Institute of Health Carlos III, ISCIII, Spain (www.isciii.es) Grant PI22/01721. JL-A is funded by MCIN/AEI/ doi 10.13039/501100011033 cofounded by the European Union, grant PID2021-127471OB-I00. AM is funded by MCIN/AEI/ doi 10.13039/501100011033 cofounded by the European Union, grant PID2022-136462NB-I00.

Authors' addresses: Esteban Salazar, District 17D03 - Health, Ministry of Public Health of Ecuador, Quito, Ecuador, Infectious and Tropical Diseases Research Group (e-INTRO), Biomedical Research Institute of Salamanca Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca (IBSAL-CIETUS), Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, 37007 Salamanca, Spain, Institute of Research in Biomedicine, Faculty of Medical Sciences, Central University of Ecuador, Quito, Ecuador, E-mail: essalazar15@gmail.com. Julio López-Abán, Infectious and Tropical Diseases Research Group (e-INTRO), Biomedical Research Institute of Salamanca Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca (IBSAL-CIETUS), Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, 37007 Salamanca, Spain, E-mail: jlaban@usal.es. Ana García-Mingo, Asociación Amigos del Cayapas – Cayapa pi chulla kumani. Salamanca, España. Whittington Health, London, UK. E-mail: anagarciamingo@gmail.com. Carlos Torres, Faculty of Medical Sciences, Central University of Ecuador, Quito, Ecuador E-mail: ctorresserrano@gmail.com. Ángel Guevara, Institute of Research in Biomedicine, Faculty of Medical Sciences, Central University of Ecuador, Quito, Ecuador, E-mail: agguevara@uce.edu.ec. Antonio Muro, Infectious and Tropical Diseases Research Group (e-INTRO), Biomedical Research Institute of Salamanca Research Centre for Tropical Diseases at the University of Salamanca (IBSAL-CIETUS), Faculty of Pharmacy, University of Salamanca, 37007 Salamanca, Spain, E-mail: ama@usal.es

370

References

- 371 1. Guderian R, Anselmi M, Guevara Á, Proaño R, Lobato R., 2018. *Historia de la*
372 *oncocercosis “ceguera de los ríos” en el Ecuador*. Quito: Editorial Universitaria UCE
- 373 2. Yilmaz R, Koçak M, Özyildiz Z, Harem IŞ., 2016. Mast cell typing in aortic onchocerciasis
374 and the immunohistochemical demonstration of Wolbachia bacteria. *Turk J Vet Anim Sci*
375 *40*: 444–450
- 376 3. Alvear JM., 2015. Oncocercosis, endemia erradicada en Ecuador Onchocercosis,
377 endemic eradicated in Ecuador. *Rev Univ Guayaquil* *119*: 27–32
- 378 4. Guderian RH, Proano R, Beck B, Mackenzie CD., 1987. The reduction in microfilariae
379 loads in the skin and eye after nodulectomy in Ecuadorian onchocerciasis. *Trop Med*
380 *Parasitol* *38*: 275–278
- 381 5. Zimmerman PA, Guderian RH, Aruajo E, Elson L, Phadke P, Kubofcik J, Nutman TB.,
382 1994. Polymerase chain reaction-based diagnosis of *Onchocerca volvulus* infection:
383 improved detection of patients with onchocerciasis. *J Infect Dis* *169*: 686–689
- 384 6. Basáñez MG, Pion SDS, Churcher TS, Breitling LP, Little MP, Boussinesq M., 2006. River
385 blindness: A success story under threat? *PLoS Med* *3*: 1454–1460
- 386 7. Simaro S, Ahouty BA, Kouadio IK, Kassi GB, Koné M, Dosso A, Touré M, Sokouri PD.,
387 2022. Daily and seasonal variation of the nuisance caused by *Simulium damnosum* s.l. in
388 three epidemiological facies of onchocerciasis (Soubré, Bouaflé and Touba) in Côte
389 d’Ivoire. *Int J Biol Chem Sci* *16*: 1721–1732
- 390 8. Rodríguez-Pérez MA, Fernández-Santos NA, Orozco-Algarra ME, Rodríguez-Atanacio
391 JA, Domínguez-Vázquez A, Rodríguez-Morales KB, Real-Najarro O, Prado-Velasco FG,
392 Cupp EW, Richards FO, Hassan HK, González-Roldán JF, Kuri-Morales PA, Unnasch
393 TR., 2015. Elimination of Onchocerciasis from Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* *9*: e0003922
- 394 9. Lakwo T, Oguttu D, Ukety T, Post R, Bakajika D., 2020. Onchocerciasis Elimination:
395 Progress and Challenges. *Res Rep Trop Med* *11*: 81–95
- 396 10. Nikiéma AS, Koala L, Post RJ, Paré AB, Kafando CM, Drabo F, Belem AMG, Dabiré RK,
397 Traoré S., 2018. Onchocerciasis prevalence, human migration and risks for
398 onchocerciasis elimination in the Upper Mouhoun, Nakambé and Nazinon river basins in
399 Burkina Faso. *Acta Trop* *185*: 176–182
- 400 11. Shelley AJ, Arzube M., 1985. Studies on the biology of Simuliidae (Diptera) at the Santiago
401 onchocerciasis focus in Ecuador, with special reference to the vectors and disease
402 transmission. *Trans R Soc Trop Med Hyg* *79*: 328–338
- 403 12. Vieira JC, Cooper PJ, Lovato R, Mancero T, Rivera J, Proaño R, López AA, Guderian RH,
404 Guzmán JR., 2007. Impact of long-term treatment of onchocerciasis with ivermectin in
405 Ecuador: potential for elimination of infection. *BMC med* *5*: 9
- 406 13. Smith ME, Bilal S, Lakwo TL, Habomugisha P, Tukahebwa E, Byamukama E, Katarbarwa
407 MN, Richards FO, Cupp EW, Unnasch TR, Michael E., 2019. Accelerating river blindness
408 elimination by supplementing MDA with a vegetation “slash and clear” vector control
409 strategy: a data-driven modeling analysis. *Sci Rep* *9*: 15274
- 410 14. Buckley J., 1951. Studies on Human Onchocerciasis and *Simulium* in Nyanza Province,
411 Kenya. II. The Disappearance of *S. neavei* from a Bush-Cleared Focus. *J Helminthol* *15*:
412 213–222
- 413 15. Davies JB., 1994. Sixty years of onchocerciasis vector control: a chronological summary
414 with comments on eradication, reinvasion, and insecticide resistance perspectives and
415 overview. *Annu Rev Entomol* *39*: 23–45
- 416 16. Downs P, Bush S, Bannerman R, Blair L, D’souza S, Ekpo U, Gyapong M, Kar K, Kelly-
417 Hope L, Mabey D, Mante S, Tate A, Velleman Y, Molyneux D., 2022. Neglected tropical
418 disease elimination is a relay race - let’s not drop the baton. *Int Health* *14*: 1–6
- 419 17. Nicholls RS, Duque S, Olaya LA, López MC, Sánchez SB, Morales AL, Palma GI., 2018.
420 Elimination of onchocerciasis from Colombia: first proof of concept of river blindness
421 elimination in the world. *Parasit vectors* *11*: 237

- 422 18. Dusabimana A, Fodjo JNS, Ndahura MM, Mmbando BP, Jada SR, Boven A, De Smet E,
423 Ukety T, Njamnshi AK, Laudisoit A, Abrams S, Colebunders R., 2022. Surveillance for
424 Onchocerciasis-Associated Epilepsy and OV16 IgG4 Testing of Children 6-10 Years Old
425 Should Be Used to Identify Areas Where Onchocerciasis Elimination Programs Need
426 Strengthening. *Pathogens* 11: 281
- 427 19. Monroy J, Lovato Silva R, Barrera Guerrón S, Acosta P, Guderian. Ronald H, Anselmi M,
428 Guevara Á, Cooper PJ, Proaño R, Ortiz P, Moreira J., 2013. *Informe País-Oncocercosis*
429 *en el Ecuador. Programa Nacional de Eliminación de la Oncocercosis en el Ecuador (*
430 *PNEO-E)*. Quito: Ministerio de Salud Pública del Ecuador
- 431 20. Guevara Á, Lovato R, Proaño R, Rodríguez-Perez MA, Unnasch T, Cooper PJ, Guderian
432 RH., 2018. Elimination of onchocerciasis in Ecuador: findings of post-treatment
433 surveillance. *Parasit Vectors* 11: 256
- 434 21. Sauerbrey M, Rakers LJ, Richards FO., 2018. Progress toward elimination of
435 onchocerciasis in the Americas. *InterHealth* 10: 71–78
- 436 22. Mahdy MAK, Abdul-Ghani R, Abdulrahman TAA, Al-Eryani SMA, Al-Mekhlafi AM,
437 Alhaidari SAA, Azazy AA., 2018. Onchocerca volvulus infection in Tihama region - west
438 of Yemen: Continuing transmission in ivermectin-targeted endemic foci and unveiled
439 endemicity in districts with previously unknown status. *PLoS Negl Trop Dis* 12: e0006329
- 440 23. Villar Aguirre M., 2011. Determining factors in health: Importance of prevention. *Acta Med*
441 *Per* 28: 237–241
- 442 24. Gascón J., 2003. Enfermedades infecciosas e inmigración. *Enferm Infecc Microbiol Clin*
443 21: 535–539
- 444 25. Guderian RH, Anselmi M, Espinel M, Mancero T, Rivadeneira G, Proaño R, Calvopiña
445 HM, Vieira JC, Cooper PJ., 1997. Successful control of onchocerciasis with community-
446 based ivermectin distribution in the Rio Santiago focus in Ecuador. *Trop Med Int Health* 2:
447 982–988
- 448 26. Guevara AG, Vieira JC, Lilley BG, López A, Vieira N, Rumbea J, Collins R, Katholi CR,
449 Unnasch TR., 2003. Entomological evaluation by pool screen polymerase chain reaction
450 of Onchocerca volvulus transmission in Ecuador following mass Mectizan™ distribution.
451 *Am J Trop Med Hyg* 68: 222–227
- 452 27. Fernández-Santos NA, Unnasch TR, Rodríguez-Luna IC, Prado-Velasco FG, Adeniran
453 AA, Martínez-Montoya H, Rodríguez-Pérez MA., 2020. Post-elimination surveillance in
454 formerly onchocerciasis endemic focus in Southern Mexico. *PLoS Negl Trop Dis* 14:
455 e0008008
- 456 28. Vieira JC, Brackenboro L, Porter CH, Basáñez MG, Collins RC., 2005. Spatial and
457 temporal variation in biting rates and parasite transmission potentials of onchocerciasis
458 vectors in Ecuador. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 99: 178–195
- 459 29. Ministerio de Salud Pública., 2013. *Manual de procedimientos del Subsistema de*
460 *Vigilancia Epidemiológica alerta acción SIVE – ALERTA*. Quito: Ministerio de Salud
461 Pública
- 462 30. Lovato R, Guevara A, Guderian R, Proaño R, Unnasch T, Criollo H, Hassan HK,
463 Mackenzie CD., 2014. Interruption of Infection Transmission in the Onchocerciasis Focus
464 of Ecuador Leading to the Cessation of Ivermectin Distribution. *PLoS Negl Trop Dis* 8:
465 e2821
- 466 31. Amazigo U, Noma M, Bump J, Benton B, Liese B, Yaméogo L, Zouré H, Seketeli A., 2006.
467 Onchocerciasis. Jamison DT, Feachem RG, Makgoba MW, eds. *Disease and Mortality in*
468 *Sub-Saharan Africa*. Washington: The International Bank for Reconstruction and
469 Development / The World Bank
- 470 32. Zouré HGM, Noma M, Tekle AH, Amazigo U V., Diggle PJ, Giorgi E, Remme JHF., 2014.
471 The geographic distribution of onchocerciasis in the 20 participating countries of the
472 African Programme for Onchocerciasis Control: (2) pre-control endemicity levels and
473 estimated number infected. *Parasit Vectors* 7: 326
- 474 33. Hamill L, Trotignon G, MacKenzie C, Hill B, Pavluck A, Yumba D, Isiyaku S, William A,
475 Nyior A, Igbe M, Anyaike C, Akilah J, Agyemang D, Marfo B, Downs P, et al., 2022.

- 476 Navigating the way to onchocerciasis elimination: the feasibility and affordability of
477 Onchocerciasis Elimination Mapping. *Int Health* 14: 117–123
- 478 34. Cupp E, Sauerbrey M, Cama V, Eberhard M, Lammie PJ, Unnasch TR., 2019. Elimination
479 of onchocerciasis in Africa by 2025: the need for a broad perspective. *Infect Dis Poverty*
480 8: 50
- 481 35. OEPA-PCC., 2011. *Guía para la detección de una Potencial Recrudescencia durante el*
482 *periodo de Vigilancia Epidemiológica Postratamiento (VEPT)*. Mexico: OEPA
- 483 36. Guevara Á, Salazar E, Vicuña Y, Hassan HK, Muro A, Guderian R, Cooper PJ, Unnasch
484 TR., 2020. Use of ov16-based serology for post-elimination surveillance of onchocerciasis
485 in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg* 103: 1569–1571
- 486 37. Salazar E, Morales D, Febrer-Sendra B, Fernández-Soto P, López-Abán J, Quinatoa P,
487 Guevara A, Muro A., 2023. Real-time polymerase chain reaction method for the detection
488 of *Onchocerca volvulus* in post-elimination surveillance of onchocerciasis in Ecuador. *Am*
489 *J Trop Med Hyg* in press
- 490 38. Campbell MC, Hirbo JB, Townsend JP, Tishkoff SA., 2014. The peopling of the African
491 continent and the diaspora into the new world. *Curr Opin Genet Dev* 29: 120–132
- 492

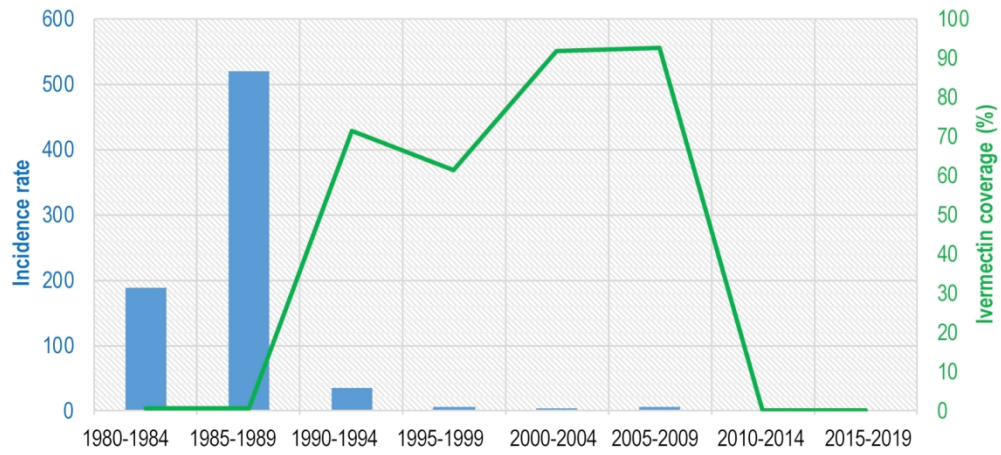


Figure 1

160x73mm (300 x 300 DPI)

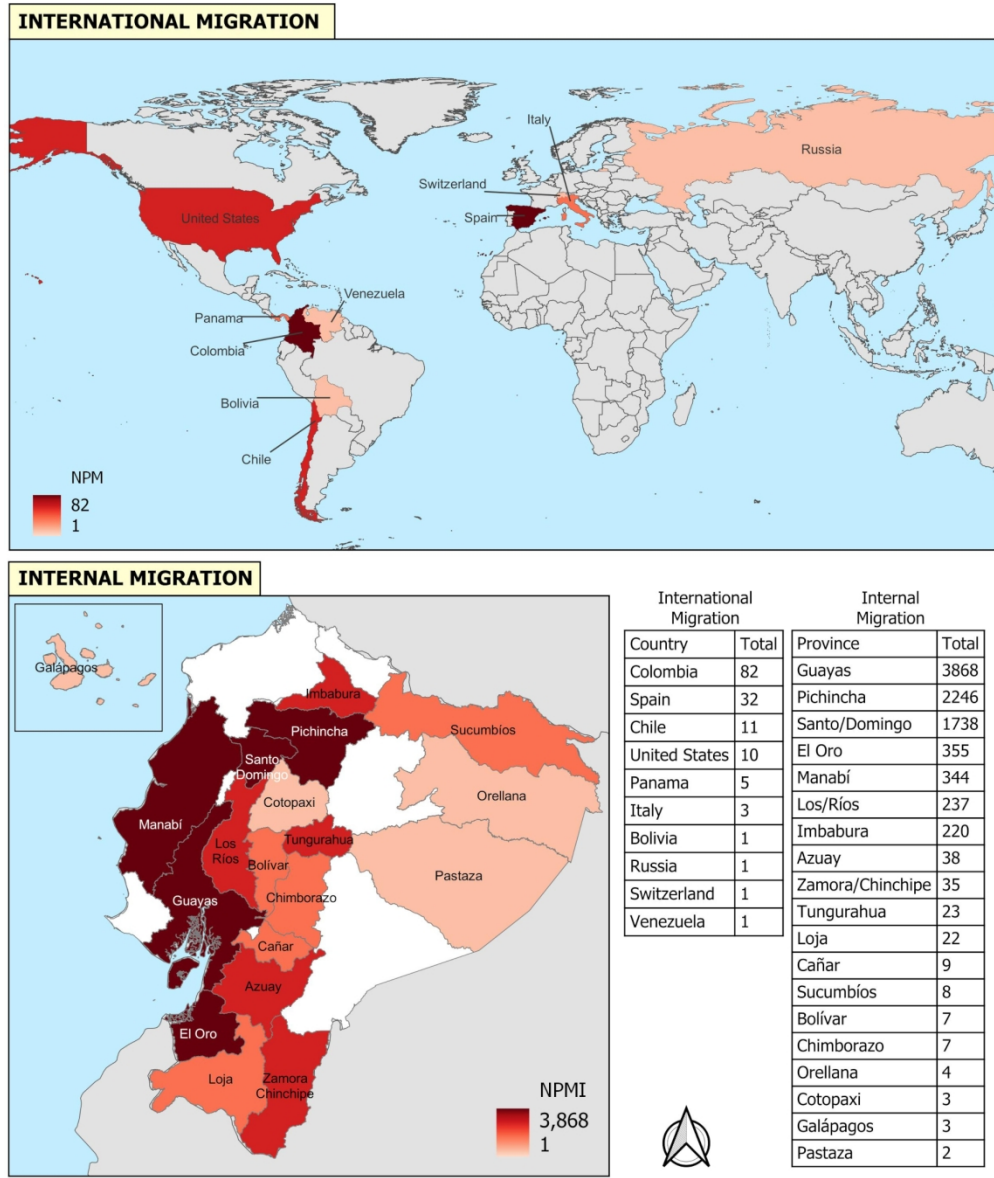


Figure 2

160x191mm (300 x 300 DPI)

Table 2. Historical interventions for control against onchocerciasis in the community before mass ivermectin administration (MIA) from 1980 to 2009. The number of patients and adverse effects are recorded.

Intervention		Years									Adverse effects
		1980	1986-1991	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	
Nodulectomy	Identified nodules	–	–	110	120	90	30	30	32	0	Recurrence
	Excised nodules	–	–	65	100	50	23	20	21	0	
	Confirmed onchocerciasis	–	–	25	40	32	15	2	0	0	
Chloroquine	Systemic treatment	–	25	–	–	–	–	–	–	–	Toxicity
	Nodule infiltration	–	36	–	–	–	–	–	–	–	
	Placebo	–	36	–	–	–	–	–	–	–	

Table 3. Number of inhabitants and percentages (%) migrating from onchocerciasis endemic areas in Ecuador by age groups from 2001 to 2009.

Age groups(years)	National migration(%)	International migration (%)	Total migration (%)
<10	5132 (27.3)	28 (18.9)	5160 (27.2)
10 - 19	6397 (34.0)	34 (23.0)	6431 (33,9)
20 - 49	5915 (31.4)	71 (48.0)	5986 (31.5)
>50	1387 (17.4)	15 (10.1)	1402 (7.4)
Total	18.83 (100)	148 (100)	18979 (100)

CAPÍTULO IV:

Discusión

La situación epidemiológica actual de *Onchocerca volvulus* en el Ecuador, disfruta de la eliminación de la oncocercosis endémica en la región de Esmeraldas en el noroeste del país, por lo que debe establecer programas de vigilancia que impidan la recrudescencia. Es un momento adecuado para analizar de manera retrospectiva las medidas que han llevado a la eliminación de la enfermedad y destacar aquellas que han sido más útiles para alcanzar la eliminación que pueden ser tenidos en cuenta en áreas en las que todavía no ha sido posible la eliminación.

Se menciona que en los años 1980 y 1990 en Ecuador, los primeros intentos con nodulectomías y la aplicación de cloroquina, suramina o dietilcarbamazina no fueron satisfactorios en cuanto a la reducción de la incidencia de nuevos casos. Además, se observó un gran número de efectos adversos. Aunque no fueron tan eficaces como la aplicación masiva de ivermectina (MIA), formaban parte de un marco en el que participaba el MSP. Entre 1990 y 2009 los programas de control mediante la aplicación masiva de ivermectina contra la oncocercosis se establecieron en 1989 bajo los auspicios de la OMS. A lo largo de los años, se ha interrumpido la transmisión en 11 países y se ha eliminado en 4 países. En la actualidad, todavía existen focos de la enfermedad en comunidades amerindias nómadas inaccesibles en la frontera de Brasil y Venezuela, y en 31 países africanos (Sauerbrey et al., 2018).

El MIA en Ecuador se estableció en 1990 utilizando la red preexistente del PNEO en la que participaban los servicios sanitarios del MSP y en la que también desempeñaban un papel los agentes locales de promoción de la salud en cooperación con el Vicariato de Esmeraldas. Los agentes locales de promoción de la salud durante la época de la MIA fueron decisivos para lograr una cobertura superior al 85% entre la población susceptible y sensibilizar sobre la oncocercosis. Desempeñaron un papel importante en la modificación de los comportamientos de riesgo y la promoción de la salud en general. La participación regular en las diversas campañas interrumpió la transmisión. La presencia de estos agentes sanitarios ha contribuido a acercar la asistencia sanitaria a las comunidades más remotas. Además, las MIA a largo plazo proporcionan otros beneficios relevantes de control y atención de otras enfermedades no transmisibles como hipertensión arterial, diabetes, tuberculosis pulmonar, epilepsia, malnutrición, atención a la morbilidad, control del crecimiento en menores de 5 años y embarazadas, vacunación. Además, se llevaron a cabo asambleas comunitarias, mingas y eventos

educativos por parte de la red de promotores de salud que llegaron a comunidades muy remotas (Guderian et al., 2018) (EIV, 2014) (PCC/OEPA, 2011).

Entre 2014 y 2023 en el Ecuador la vigilancia post-eliminación de la oncocercosis, se circunscribe a la notificación de casos sospechosos, con uno o más nódulos subcutáneos de consistencia dura, móvil, indoloros, localizados sobre una superficie ósea y que además haya vivido en focos endémicos, al SIVE-ALERTA del MSP (Ecuador MSP, 2014). También existe la posibilidad de reemergencia de *O. volvulus* por efecto de la migración poblacional ocurrida antes del 2009 fecha de suspensión del tratamiento de ivermectina en el Ecuador, se realiza la extracción de muestras de sueros en niños menores de 10 años y la colecta de *Simulium exiguum* para detectar la presencia de la infección de la oncocercosis en las últimas comunidades centinelas en eliminar la enfermedad. Por lo tanto, la serología con ELISA Ov16 en humanos y la qPCR en *Simulium* demuestran la no existencia de nuevos casos de oncocercosis, con estos resultados planteamos realizar un análisis histórico sobre el impacto de las estrategias de control y la posible reemergencia de la enfermedad.

En otras zonas endémicas donde se ha logrado eliminar la infección, también se han encontrado estructuras organizadas con continuidad en Colombia, México, Guatemala, Uganda y Sudán (Nicholls et al., 2018) (Cupp et al., 2019). Sin embargo, en zonas donde la infección persiste, se han encontrado redes sociosanitarias incompletas e inestabilidad sociopolítica (Venezuela, Brasil, Yemen Sudán del Sur, República Centroafricana, Angola, Costa de Marfil y República Democrática del Congo) (Lakwo, 2020). Este estudio destaca la importancia de las pruebas diagnósticas en humanos y vectoriales y la participación de los agentes locales, las comunidades afectadas y los gobiernos locales de salud y las limitaciones encontradas fueron la no existencia en el país de las pruebas serológicas y qPCR como también la carencia de ADN nativo, a pesar de aquello hemos logrado demostrar que aún se mantiene la eliminación de la oncocercosis en las comunidades endémicas de oncocercosis del Ecuador. A partir de 2023 se esperaría que la vigilancia post-eliminación se mantenga con el control de nódulos, encuestas serológicas con ELISA Ov-16, encuestas entomológicas con secuencia O-150 y con el apoyo de los agentes locales de salud entrenados también para el control de otras enfermedades tropicales desatendidas endémicas en la provincia de Esmeralda y Santo Domingo de Tsáchilas y sirva como modelo de vigilancia especializada para monitorear la recrudescencia de la oncocercosis acompañada de un

stock de emergencia de ivermectina para la quimioterapia preventiva. Bajo este riesgo de recrudescencia de la enfermedad por efecto de la migración poblacional, nuestros datos indican que este riesgo es extremadamente bajo o remoto debido por el número relativamente pequeño de emigrantes, su posible tratamiento con ivermectina y la baja actividad efectiva de *Simulium* en las zonas receptoras de Ecuador u otros países (Nikièma et al., 2018) (Salinas, 2013) (Campbell et al., 2014).

4.1 Referencias

- Campbell MC, Hirbo JB, Townsend JP, Tishkoff SA. The peopling of the African continent and the diaspora into the new world. *Curr Opin Genet Dev.* 2014 Dec; 29:120-32.
- Comité Coordinador del Programa (PCC) y Programa para la Eliminación de la Oncocercosis en Las Américas (OEPA). Guía para la detección de una Potencial Recrudescencia durante el periodo de Vigilancia Epidemiológica Postratamiento (VEPT). 2011.
- Cupp E, Sauerbrey M, Cama V, Eberhard M, Lammie PJ, Unnasch TR. Elimination of onchocerciasis in Africa by 2025: the need for a broad perspective. *Infect Dis Poverty.* 2019 Jul 15; 8(1):50.
- Ecuador MSP. Manual de procedimientos del subsistema alerta acción. SIVE-ALERTA, Quito; 2014.128:130p.
- Equipo Internacional de Verificación de la Eliminación de la Oncocercosis en Ecuador (EIV). 2014. Informe Técnico. Quito y Esmeraldas, Ecuador, 4 al 10 de mayo del 2014. Pp. 1-29.
- Guderian RH, Anselmi M, Guevara AG, Proaño R, Lovato R. Historia de la Oncocercosis “Ceguera de los ríos” desde su descubrimiento hasta su eliminación. Editorial Universidad-UCE abril 2018.
- Lakwo T, Oguttu D, Ukety T, Post R, Bakajika D. Onchocerciasis Elimination: Progress and Challenges. *Res Rep Trop Med.* 2020 Oct 7; 11:81-95.
- Nicholls RS, Duque S, Olaya LA, López MC, Sánchez SB, Morales AL, Palma GI. Elimination of onchocerciasis from Colombia: first proof of concept of river blindness elimination in the world. *Parasit Vectors.* 2018 Apr 11; 11(1):237.
- Nikièma AS, Koala L, Post RJ, Paré AB, Kafando CM, Drabo F, Belem AMG, Dabiré RK, Traoré S. Onchocerciasis prevalence, human migration and risks for onchocerciasis elimination in the Upper Mouhoun, Nakambé and Nazinon river basins in Burkina Faso. *Acta Trop.* 2018 Sep; 185:176-182.
- PCC/OEPA, Guía para la detección de una Potencial Recrudescencia durante el periodo de Vigilancia Epidemiológica Postratamiento (VEPT). 2011.
- Salinas Castro RV, La vulnerabilidad de las comunidades afro y chachis frente al cambio climático: Una mirada desde las representaciones y prácticas frente a las inundaciones. Quito: FLACSO Sede Ecuador; 2013
- Sauerbrey M, Rakers LJ, Richards FO. Progress toward elimination of onchocerciasis in the Americas. *Int Health.* 2018 Mar 1;10(suppl_1):i71-i78.

**CAPÍTULO V:
Conclusiones**

- I. La técnica de ELISA para determinación de anticuerpos contra el antígeno Ov16 en sueros de niños menores de 10 años residentes en zonas endémicas reveló la ausencia de contacto con el parásito. Estos resultados evidencian la interrupción de la transmisión de la oncocercosis tras la certificación de la eliminación de la enfermedad.

- II La técnica de PCR cuantitativa para detectar la secuencia O-150 específica de *Onchocerca volvulus* en los vectores *Simulium exiguum* más sensibles a la infección no encontró ninguna muestra positiva que reafirma la interrupción de la transmisión en el área de estudio y el bajo potencial de difusión de la infección.

- III Las medidas de vigilancia basadas en estudios sobre detección de anticuerpos contra *Onchocerca volvulus* en la población y secuencias de ADN específicas del parásito en los vectores son útiles para detectar una potencial recrudescencia de la infección. Estas medidas se deberán mantener hasta que se eliminen los últimos focos en Sudamérica.

- IV El análisis de los registros sobre las medidas de control del Programa Nacional de Eliminación de la Oncocercosis (PNEO) muestra que las medidas críticas para la eliminación de la oncocercosis estuvieron basadas en la administración masiva de ivermectina y en acción coordinada de las medidas institucionales y comunidades locales.



2023

