



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

La pulga *Ctenocephalides felis felis* como
posible hospedador paraténico del nematodo
Toxocara canis.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTAN

Rivas Villegas Erika Azucena.

Ochoa Mayorga Karla Ruth.

ASESOR: M. en C. Juan Pablo Martínez Labat.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

A Dios.

Gracias por dejarme llegar a este momento, por todo lo bonito que me has dado, una familia, salud, son la parte más importante en mi vida, sin las cuales no hubiera podido obtener este logro.

A la Universidad.

Me siento muy orgullosa de pertenecer a esta gran institución, afortunada de haber tenido la oportunidad y el honor de obtener todos los beneficios que nos brinda, agradezco principalmente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por la profesionista que formó de mí.

A mi madre.

Mi querida Nat, nunca tendré como pagarte y agradecerte todo lo que me has dado, has sido doblemente padre y madre para mí, eres el mejor ejemplo de mujer, madre y amiga que pudiera tener, estoy muy orgullosa de ti, de la familia que formaste a pesar de todo lo que tuviste que pasar y sufrir para lógralo. Este logro en gran parte te lo debo a ti, sin tu amor, tu apoyo, tus consejos, tu dedicación no lo hubiera logrado. Sé que tienes mucho depositado en mí, créeme que no te voy a fallar mi amor, voy a poner mi mayor esfuerzo para lograrlo.

A mis hermanos.

Brenda y Luis, ustedes han sido una pieza muy importante en mi vida, me han brindado apoyo incondicional, amistad, cariño y lo mas importante está familia tan bonita que tenemos, la cual espero conservemos por siempre y al igual que a mi mamá nunca tendría como pagarles todo lo que me han dado.

A Ramón.

Representas un apoyo muy importante, cuando estaba a punto de dejar todo, ahí estabas para ayudarme a levantar de nuevo, creo que siempre hace falta un estímulo como tu, las cosas mas difíciles parecen mas sencillas.

A mis amigos.

Nunca pensé encontrar amigos como ustedes, hicieron mi paso por la universidad TAN ESPECIAL, aprendí muchas cosas de cada uno y dejaron una huella en mi para siempre, todo lo que vivimos, clases, trabajo, fiestas, viajes, buenos y malos momentos no lo cambiaria por nada, de verdad que si pudiera regresar el tiempo los volvería a elegir a cada uno de ustedes, representan una de las etapas mas bonitas de mi vida.

A Karla Ruth.

Sé Karlita, que aunque muchas veces nos desesperamos una con la otra, quisimos mandar todo a volar, valió la pena TANTO ESFUERZO de las dos y ahora se ve reflejado. Creo que además de hacer este trabajo aprendimos mucho a lo largo de todo este tiempo, a ser perseverantes, pacientes, entre otras cosas, pero creo que hay algo muy importante que logramos, ser mejores amigas. Gracias Karlita por soportarme y aunque alguna vez pensamos que no pasaría, LO LOGRAMOS.

A mi tío David.

Sabes, fuiste un gran ejemplo de fortaleza, amor, superación, tantas cosas que siempre voy a llevar en mi corazón y me ayudaron a llegar hasta aquí, GRACIAS por todo lo que compartimos y me diste, sé que desde donde estas me puedes ver y estás contento por que llego este momento en mi vida, NUNCA TE VOY A OLVIDAR.

A mi asesor.

Gracias doctor Pablo por toda la paciencia, la dedicación, por regalarme un poco de sus conocimientos, por la confianza que nos tuvo para la realización de este proyecto y por brindarme la oportunidad de conocer más. Siempre estuvo para apoyarnos y decirnos que le pusiéramos muchas ganas a lo que estábamos haciendo, nos exigió mas de lo que a veces nos parecía y hoy se lo agradezco, sin todas esas observaciones no hubiéramos logrado este trabajo.

A todos los animales.

De los cuales tomé su vida con fines de investigación, sin ellos la realización de este trabajo hubiera sido imposible, gracias por haber hecho de este proyecto una realidad.

Erika Azucena Rivas Villegas

DEDICATORIAS

(Karla Ruth Ochoa Mayorga)

Al Amor de mi vida:

Sergio Antonio Hernández Rivera.

Por el amor, apoyo, respeto y felicidad que me has dado desde que estamos juntos y que permanecerá eternamente. ¡Por tu amor!,
¡Te dedicó esta Tesis y el Título!

A mi papá:

Maximino Ochoa Rivas.

A quien debo mi carrera, que me ha dado cariño, amor, además de ser ejemplo de rectitud y honradez durante todos los días de mi vida. Por que se que lo que mas deseas es verme concluir mi carrera ¡En tu honor padre!,

¡Te brindaré el título!

A mi mamá:

Alicia Mayorga Varela.

Por su paciencia, alegría; por ser además de madre mi mejor amiga, La que me apoyo en mis momentos difíciles y me aconsejo en mis momentos de duda.

¡Por tu abnegación madre! ¡Te dedicó esta Tesis y el Título!.

A mi hermano:

Víctor Manuel Ochoa Mayorga.

Porque siempre se entrometió en mis calificaciones desde Secundaria y me dedicó tiempo para prepararme en mis exámenes de admisión en Vocacional y Superior. A quien a sido mi ejemplo a seguir después de mi padre; a quien mas respeto, a quien es mi orgullo, a quien mas admiro. Mi hermano; ¡Por tu presencia constante en mi vida!.,
¡Te dedico esta Tesis y el Título!.

A mi hermano:

Sergio Ochoa Mayorga.

Por tu alegría, por tu practicidad y filosofía en la vida; porque me ayudaste a tomar las cosas difíciles de la vida con valentía y a la vez simplicidad, siempre fue fácil hablar contigo, llamando las cosas por su nombre, muchas veces desee ser como tú. ¡Porque te admiro!, ¡porque te respeto!. Mi hermano, ¡Te dedico esta Tesis y el Título!.

A mi cuñada:

Beatriz Astilla Estilla.

Porque has llegado a formar parte de la familia, por ser madre, estudiante y trabajadora; por ser la compañera de mi hermano. Porque te respeto, ¡Te dedico esta Tesis y el Título!.

A mis sobrinos:

Daira Berenice y Sergio Jr. (a quien esperamos con gozo)

Porque han venido a enriquecer la felicidad de su padre y madre, de sus abuelos y tíos

A mi Asesor y Sinodal:

M. en C. Juan Pablo Martínez Labat.

La persona que como maestro, es uno de los mejores, pues tiene la vocación y el conocimiento para ofrecer; como investigador, es dedicado, confiable y veraz.; como asesor, exigente pero nunca te deja solo; como persona alegre, lleno de energía, dispuesto a escuchar sin desquitarse con nadie por un mal día y como amigo leal.

Porque como maestro lo admiro, como asesor lo respeto, como persona lo valoro y como amigo le tengo cariño. Por todo esto y por el conocimiento que me ha brindado en mi estancia en el Laboratorio. **Dr. Pablo**, (más por derecho que por título), ¡Le dedicó esta Tesis que también es suya!

A mis sinodales

M.V.Z. Juana Ortiga Mondragón.

M.V.Z. Luis Alejandro Vázquez López

M.V.Z. Rocío Silva Mendoza.

M.C. Crisóforo Mercado Márquez.

Por la revisión que del trabajo y el tiempo que se tomaron para leerlo, corregirlo y enriquecido, les agradezco.

A mis compañeros y amigos:

Elibeth, Nelí, Lalo, Paulina, César, Omar, Ramón, Vanesa, Melisa, Xavier, Francisco, Guillermo, Judith, Rocío, Guillermina, Paty, Sami. y todos aquellos amigos, actuales y antiguos que por tiempo y nervios mi memoria ha pasado por alto pero no olvidado

**Al Centro de control canino del Municipio de Cuautitlán Izcalli
y todos sus trabajadores**

Por permitirnos el acceso a sus instalaciones para la toma y recolección de material biológico utilizado en esta Tesis.

A mi compañera de trabajo que también es mi amiga:

Erika Azucena Rivas Villegas

Porque no te rendiste y me apoyaste cuando estaba por claudicar, por tu amistad y tu fuerza gracias a la cual, por fin terminamos otra etapa de nuestras vidas
¡FELICIDADES!

A Don Rafa

Agradezco su ayuda en la recolección de material biológico en épocas de escasez, a su buena disposición, porque sin esto, mucho de nuestro trabajo se hubiese perdido retrasando esta investigación ¡GRACIAS!

ÍNDICE.

1. Resumen.....	pág.01
2. Introducción.....	pág.02
2.1. La pulga.....	pág.02
2.1.1. Epidemiología.....	pág.02
2.1.2. Ciclo de vida de la pulga.....	pág.03
2.1.2.1. Huevos.....	pág.04
2.1.2.2. Fase de larvas.....	pág.04
2.1.2.3. Fase pupal.....	pág.05
2.1.2.4. Fase adulta.....	pág.07
2.1.3. Inmunopatología.....	pág.08
2.1.4. Diagnóstico.....	pág.08
2.1.5. Control.....	pág.09
2.1.5.1. Ambiente externo.....	pág.09
2.1.5.2. Ambiente interno.....	pág.09
2.1.5.3. Tratamiento de la infestación por pulgas.....	pág.10
2.2. Las pulgas como transmisores de agentes infecciosos.....	pág.11
2.3. <i>Dipylidium caninum</i>	pág.12
2.3.1. Morfología.....	pág.12
2.3.2. Ciclo biológico.....	pág.12
2.3.3. El papel de la pulga como hospedero intermediario de <i>D. caninum</i> como modelo en el parasitismo por fases larvianas de <i>Toxocara canis</i>	pág.14
2.4. <i>Toxocara canis</i>	pág.14
2.4.1. Epidemiología.....	pág.14
2.4.2. Morfología.....	pág.15
2.4.3. Ciclo biológico.....	pág.16
2.4.4. Patogenia.....	pág.17
2.4.5. Lesiones.....	pág.18
2.4.6. Signología.....	pág.19
2.4.7. Inmunidad.....	pág.19
2.4.7.1. Los eosinófilos en la toxocariosis.....	pág.20
2.4.8. Diagnóstico.....	pág.21
2.4.8.1. Detección del parásito en el suelo.....	pág.21
2.4.8.2. Diagnóstico en humano.....	pág.21
2.4.8.3. Correlación con serología positiva.....	pág.21
2.4.8.4. Altos niveles de IgE.....	pág.22
2.4.8.5. Eosinofilia.....	pág.22
2.4.8.6. Histopatología.....	pág.22
2.4.9. Control.....	pág.22
2.4.10. Terapéutica.....	pág.23
2.4.11. Aspectos zoonóticos.....	pág.24

3. Objetivos	pág.27
3.1. Objetivo general.....	pág.27
3.2. Objetivo particular.....	pág.27
4. Material y Métodos	pág.28
4.1 Material biológico.....	pág.28
a) Huevos larvados de <i>Toxocara canis</i>	pág.28
b) Obtención de huevos de pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i>	pág.28
c) Sangre desfibrinada.....	pág.28
4.2 Metodología.....	pág.29
A) La crianza de las pulgas.....	pág.29
B) Inducción de la parasitosis en la pulga.....	pág.29
C) Evaluación de la presencia o no de las larvas <i>T. canis</i> en larvas y adultos de pulga.....	pág.29
5. Resultados	pág.31
5.1. Inducción de la parasitosis en la pulga.....	pág.31
5.2. Resultados de las digestiones realizadas.....	pág.31
5.2.1 Resultados de la inoculación de larvas 1 de pulga.....	pág.31
5.2.2. Resultados de la inoculación de larvas 2 de pulga.....	pág.31
5.2.3. Resultado de la inoculación de larvas 3 de pulga.....	pág.35
5.2.4. Grupo control de las larvas 2 y 3 comparadas con los grupos infestados con <i>T. canis</i> en las mismas fases.....	pág.39
5.2.5. Fase pupal.....	pág.40
5.2.6. Pulgas adultas expuestas a <i>T. canis</i> en fase de larva 2.....	pág.41
5.2.7. Pulgas adultas expuestas a <i>T. canis</i> en fase de larva 3.....	pág.43
5.2.8. Comparación entre dos diferentes grupos de adultas.....	pág.46
5.2.9. Comparación de tamaños entre los grupos de adultas.....	pág.47
6. Discusión	pág.48
6.1. INÓCULO.....	pág.48
6.2. CULTIVO DE PULGAS.....	pág.48
6.3. INOCULACIÓN DE PULGAS.....	pág.49
7. Conclusiones	pág.54
8. Anexos	pág.55
9. Bibliografía	pág.56

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1	Taxonomía sistemática	Pág. 02
Tabla 2	Combinaciones de las temperaturas y humedades para la incubación de huevos de pulga.	Pág. 04
Tabla 3	Condiciones necesarias para el desarrollo de las larvas de pulga.	Pág. 05
Tabla 4	Fármacos para el tratamiento de infestaciones por ascáridos y ancilostomas en perros y gatos.	Pág. 25
Tabla 5	Cantidad de huevos de <i>T. canis</i> suministrados en las diferentes fases evolutivas de la pulga a infestar	Pág. 31
Tabla 6	Resultados obtenidos de 1500 larvas 2 de pulga inoculados con <i>T. canis</i>	Pág. 32
Tabla 7	Resultados de las digestiones realizadas a 1061 larvas 2 de pulga recuperadas después de exponerlas a varios inóculos de larvas de <i>T. canis</i> .	Pág. 33
Tabla 8	Resultados obtenidos de larvas 3 de pulga inoculadas con <i>T. canis</i>	Pág. 35
Tabla 9	Resultado numérico y porcentual de larvas 3 de pulga infestadas con larvas de <i>T. canis</i> y recuperadas inoculando diferentes cantidades de larvas	Pág. 36
Tabla 10	Registro de sobrevivencia de las larvas de pulga control en las fases larvarias 2 y 3	Pág. 39
Tabla 11	Comparación de los resultados obtenidos entre los grupos de larvas 2 y 3 control y los grupos infestados con <i>T. canis</i> en las mismas fases	Pág. 39
Tabla 12	Análisis de resultados de pupas de pulga infestadas con <i>T. canis</i>	Pág. 40
Tabla 13	Resultados obtenidos de la digestión de pulgas adultas inoculadas en la fase de larvas 2 con huevos larvados de <i>T. canis</i>	Pág. 41
Tabla 14	Análisis numérico y porcentual de pulgas adultas expuestas a <i>T. canis</i> durante su fase 2	Pág. 41
Tabla 15	Resultados obtenidos de la digestión de pulgas adultas inoculadas en la fase de larvas 3 con huevos larvados de <i>T. canis</i>	Pág. 43
Tabla 16	Análisis numérico y porcentual de pulgas adultas expuestas a <i>T. canis</i> durante su fase 3	Pág. 44
Tabla 17	Resumen de los tamaños obtenidos en pulgas adultas en diferentes etapas	Pág. 55
Tabla 18	ANÁLISIS DE VARIANZA	Pág. 55
Tabla 19	Comparación de F calculada contra F de tablas.	Pág. 55

ÍNDICE DE ESQUEMAS.

Esquema 1	Ciclo de vida de la pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .	Pág. 03
Esquema 2	Ciclo biológico de <i>Dipylidium caninum</i>	Pág. 13
Esquema 3	Ciclo biológico de <i>Toxocara canis</i> .	Pág. 17

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.

Fotografía 1	Huevos de pulga en zona de descanso	Pág. 03
Fotografía 2	perro infestado con pulgas	Pág. 03
Fotografía 3	Huevos en estrato de tierra	Pág. 04
Fotografía 4	Huevos en estrato de tierra	Pág. 04
Fotografía 5	Grupo de larvas 1 de pulga, alimentándose por primera vez con sangre	Pág. 05
Fotografía 6	Pupa de pulga con adherencias de tierra y ramas que lo camuflajeen	Pág. 06
Fotografía 7	Larva prepupal en forma de "U"	Pág. 06
Fotografía 8	Verdadera pupa	Pág. 06
Fotografía 9	Pupa preemergente en molde imago pupal	Pág. 06
Fotografía 10	Pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i>	Pág. 07
Fotografía 11	Gusano adulto de <i>Dipylidium caninum</i> .	Pág. 12
Fotografía 12	Proglótido de <i>D. caninum</i> en tinción carmín se observan dos dotaciones de órganos genitales	Pág. 12
Fotografía 13	Paquetes de huevos de <i>D. caninum</i> organizados en grupos de 5-30 en cápsulas ovígeras.	Pág. 12
Fotografía 14	Grupo de <i>T. canis</i>	Pág. 16
Fotografía 15	Comparación de hembra y macho adultos de <i>T. canis</i> .	Pág. 16
Fotografía 16	Larva 2 de pulga muerta por <i>T. canis</i> , de tonalidad rojiza	Pág. 50
Fotografía 17	Larva 3 de pulga muerta por <i>T. canis</i> . Su muerte ocurre antes de iniciar la forma "U" prepupal	Pág. 50
Fotografía 18	Acumulos de huevos de <i>T. canis</i> incluidos en una sustancia café obtenidos de larvas tres de pulga previamente infestadas	Pág. 51
Fotografía 19	Acumulos de huevos de <i>T. canis</i> incluidos en una sustancia café obtenidos de larvas tres de pulga previamente infestadas	Pág. 51
Fotografía 20	Pulgas adultas infestadas en su fase larvaria 2 y 3 con <i>T. canis</i> , la primera muestra un abdomen deforme no desarrollado; la segunda presenta deformidad en el área del sensilio	Pág. 52
Fotografía 21	Pulgas adultas infestadas en su fase larvaria 2 y 3 con <i>T. canis</i> , la primera muestra un abdomen deforme no desarrollado; la segunda presenta deformidad en el área del sensilio	Pág. 52
Fotografía 22	Huevos de <i>T. canis</i> obtenido de una larva 3 de pulga previamente infestada; sus bordes desgastados están cubiertos con melanina, dentro se observa una larva	Pág. 52
Fotografía 23	Larva de <i>T. canis</i> obtenida de una larva 2 de pulga previamente infestada; muestra una serie de vacuolas principalmente en su parte anterior	Pág. 52

ÍNDICE DE GRAFICOS.

Gráfica 1	Resultados del análisis de 1061 larvas 2 de pulga infestadas con <i>T. canis</i> .	Pág. 34
Gráfica 2	Porcentaje de larvas 2 de pulga recuperadas positivas y negativas a <i>T. canis</i> usando cuatro diferentes inóculos.	Pág. 34
Gráfica 3	Análisis de 1500 larvas 3 de pulga infestadas con <i>T. canis</i>	Pág. 37
Gráfica 4	Porcentaje de larva de pulga fase 3 positivas y negativas a <i>T. canis</i> correspondientes a los 4 diferentes inóculos utilizados	Pág. 38
Gráfica 5	Comparación porcentual en larvas 2 y 3 de pulga recuperadas vivas infestadas con <i>T. canis</i> .	Pág. 38
Gráfica 6	Comparación de porcentajes de recuperación entre larvas 2 y 3 de pulga control larvas de pulga infestadas con <i>T. canis</i> las mismas fases.	Pág. 40
Gráfica 7	Análisis de 300 pulgas adultas vivas infestadas en larva 2 con <i>T. canis</i> .	Pág. 42
Gráfica 8	Resultados del análisis de pulgas adultas expuestas a larvas de <i>T. canis</i> en su fase de larva 2.	Pág. 42
Gráfica 9	Análisis de 300 pulgas adultas vivas infestadas en larva 3 con <i>T. canis</i> .	Pág. 44
Gráfica 10	Análisis porcentual de pulgas adultas infestadas con <i>T. canis</i> en larva 3	Pág. 45
Gráfica 11	Relación general entre pulgas adultas positivas a <i>T. canis</i> y pulgas con deformidades expuestas durante la fase de larva 2 y larva 3	Pág. 46
Gráfica 12	Comparación de tamaños promedio entre pulgas adultas control y pulgas adultas infestadas en las fases 2 y 3 con <i>T. canis</i>	Pág. 47

1. RESUMEN

El *Toxocara canis* es un nematodo del intestino delgado del perro, ampliamente diseminado, con alta incidencia, e importancia como problema de salud pública por sus variadas formas de transmisión que facilitan su diseminación.

El presente trabajo es pionero, en él, se estableció un modelo biológico para probar el posible papel de la pulga *Ctenocephalides felis felis*, como hospedador paraténico de *Toxocara canis*, para lograrlo, se infestaron larvas de pulga criadas en el laboratorio en frascos en sustrato de tierra, que resultó el medio más práctico, además de proporcionar las condiciones óptimas de temperatura (15-25 °C), ventilación y humedad constante.

Un grupo de 1,500 larvas fase uno, un segundo grupo de 1500 larvas fase dos y un tercer grupo de 2100 larvas fase tres de pulga *C. felis felis* fueron inoculados con distintas concentraciones de huevos larvados fase 2 de *T. canis* integrados en sangre desecada como alimento, estos insectos fueron posteriormente colectados y sometidos a digestión artificial, para demostrar la presencia o no del nematodo y determinar así la fase de la pulga susceptible de infestación.

En una segunda etapa se inocularon 2200 individuos en larva dos y 2000 en larva tres con el mismo tipo de inóculo a diferentes concentraciones de huevos larvados para determinar el porcentaje de insectos adultos que desarrollaban la infestación, probar el nivel de supervivencia de las larvas del nematodo inoculadas en las distintas fases evolutivas de la pulga y demostrar su presencia en las fases adultas sometidas a digestión artificial.

Se encontró que ninguna de las larvas uno analizadas resultó positiva a larvas de *T. canis*, del total de larvas dos de pulga inoculadas con *T. canis* (1500), se lograron recuperar 1061 individuos de los cuales únicamente se mantuvieron vivos y con un porcentaje de positividad a la presencia del nematodo del 4.33% y una tasa de supervivencia del 0.86% del total de larvas inoculadas. Para las larvas tres del total de inoculadas (2100), se recuperaron 1406 individuos de los cuales solo 330 fueron recuperadas vivas 20.68% de éstas resultó positivo al nematodo, con una tasa de supervivencia del 3.50%. De las larvas 2 de pulga infestadas con *T. canis* para su revisión en adultas (2200), se obtuvieron únicamente 300 pulgas adultas vivas, de las cuales 3.66% resultaron positivas a *T. canis*, con un porcentaje de supervivencia general del 0.33%. Del grupo de larvas tres de pulga infestadas con *T. canis* para su revisión en adultas (2000), se recuperaron 300 vivas con un 14.03% de adultas positivas y un porcentaje de supervivencia del 2.24%. El grupo control, fue utilizado únicamente para comparación de tamaños y deformidades naturales y de las 56 pupas obtenidas únicamente el 7% del total de pupas obtenidas resultaron positivas a *T. canis*. En todas las fases evolutivas de las pulgas en las que se obtuvieron larvas de *T. canis* se observó que las larvas del nematodo carecían de motilidad, perdido su viabilidad y resultaban inútiles para completar su desarrollo posterior en el hospedero canino.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LA PULGA.

Las pulgas han existido desde hace 60 millones de años, originalmente eran parásitos con un exterior similar a los insectos de dos alas o dípteros, de hecho, su forma larvaria ha mantenido la similitud con estos, por el contrario, su forma adulta ha evolucionado hasta perder las alas; existen más de 2000 especies y subespecies descritas a través de todo el mundo, situándose entre uno de los más importantes ectoparásitos, se considera que el 95% afecta a mamíferos, particularmente a gatos y perros, el otro 5% aves. Su clasificación taxonómica se muestra en la tabla 1 (Krümer, 2001).

Taxonomía sistemática.

Phylum			Arthropoda
Subphylum			Tracheata (=Antennata)
Clase.			Insecta (Hexapoda)
Orden			Siphonapterida
Familia	Pulicidae	Familia	Ceratophyllidae
Género.	<i>Ctenocephalides</i> , <i>Pulex</i> , <i>Spilopsyllus</i> , <i>Archaeopsyllus</i> <i>Tunga</i> <i>Xenopsylla</i>	Género.	<i>Ceratophyllus</i> , <i>Nosopsyllus</i>
Especie.	<i>C. felis</i> (Bouche 1835). <i>C. canis</i> (Curtis 1826). <i>P. irritans</i> (Linné 1758). <i>S. cuniculi</i> (Dale 1878). <i>T. peetrans</i> <i>X. cheopis</i>	Especie	<i>C. gallinae</i> <i>C. columbae</i>

Tabla 1, Modificada de Krümer. 2001

Los géneros mas importantes de pulgas dentro de la medicina incluyen a *Tunga penetrans*, *Pulex irritans*, *Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis felis* y *Xenopsylla cheopis*, particularmente, la pulga hembra del género *Ctenocephalides* consume un aproximado de 13.6µl (+/- 2.7µl) de sangre por día, con este volumen de sangre, 72 pulgas hembras pueden consumir un mililitro diariamente llegando a producir anemia ferropénica de consecuencias fatales en mamíferos jóvenes, incluyendo niños (Krümer, 2001).

La pulga también ejerce la función de hospedero intermediario y participa como tal en una variedad de enfermedades que representan un riesgo contenido a la salud, ejemplo: la infestación del cestodo *Dipylidium caninum* un parásito ocasional del humano mediante la ingestión de pulgas *C. felis felis* (Krümer, 2001).

La dermatitis alérgica, una causa común en la consulta veterinaria, es causada la mayoría de las veces por la infestación por pulgas lo que hace el control definitivamente necesario en las mascotas y en el medio ambiente, esto resulta caro, los costos por control de daños relacionados con las pulgas representan el 50 % de los casos dermatológicos registrados anualmente por veterinarios, un ejemplo, es el gasto anual por dueños de mascotas en los Estados Unidos que suele exceder los mil millones de dólares (Krümer, 2001).

2.1.1. Epidemiología.

La pulga, *C. felis felis* que se adaptó a animales cuyas cacerías frecuentemente los mantienen lejos durante periodos prolongados, su táctica es la de permanecer sobre el hospedador hasta completar su ciclo vital, pueden saltar una vez sobre perro o gato, pero ya no lo abandonará más, permanecerá sobre el, alimentándose y reproduciéndose (Georgi, 1991).

Los huevos y heces de pulga caen del pelaje de modo continuo y tienden a concentrarse en los lugares de reposo del hospedador; las pulgas adultas emergen espontáneamente de las pupas tras un periodo de varias semanas, dependiendo de la temperatura ambiente, una vez eclosionadas deben encontrar un hospedador en pocas semanas para no morir exhaustas o deshidratadas, estas pueden sobrevivir mucho más tiempo en un ambiente suficientemente húmedo y fresco. La baja humedad es el enemigo fundamental de todas las pulgas, especialmente de los estadios larvarios y es posiblemente el factor clave que determina la abundancia estacional de las pulgas y los trastornos caninos relacionados con ellas (Georgi, 1991).



Fotografía 1. Huevos de pulga en zona de descanso

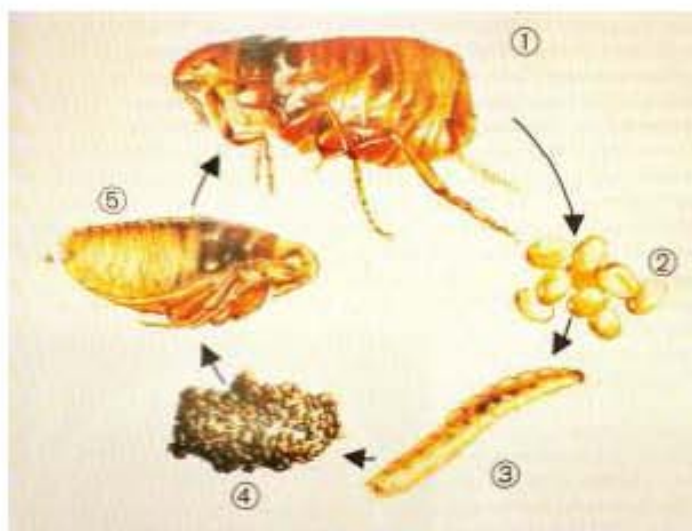


Fotografía 2. Perro infestado con pulgas

Las pulgas abandonarán a su hospedador a la muerte de este o cuando se encuentra infestado masivamente, 200 pulgas o mas pueden representar una población excesiva, especialmente cuando se encuentran en las zonas específicas de succión, al ocurrir esto los humanos pueden volverse hospedadores accidentales, pero *C. felis felis* tiende a no permanecer durante mucho tiempo sobre este, únicamente el tiempo necesario para alimentarse (Georgi, 1991).

2.1.2. Ciclo de vida de la pulga.

Las pulgas son insectos con metamorfosis completa, su desarrollo comprende cuatro estadios; huevo, larva, pupa y adulto, (Esquema 1) puede ser completado en 14 días o prolongarse arriba de los 140, dependiendo de la temperatura y de la humedad. El ciclo de vida de la mayoría de las especies de pulga se caracteriza por tres eventos: la eclosión del huevo, el periodo de larva 1 a pupa y el periodo de pupa a adulto. Las hembras ponen varios cientos de huevos durante su vida, por ejemplo *Ctenocephalides felis felis* pone aproximadamente 20 huevos diarios durante un periodo de 3 a 4 semanas (de 800 a 1000 huevos) (Quiroz, 1999).



Esquema 1. Ciclo de vida de la pulga *C. felis felis* 1. Pulga adulta. 2. Huevos. 3. Larva. 4. Pupa. 5. Pupa preemergente (Tomado de Krümer, 2001)..

2.1.2.1 Huevos.

Los huevos de la pulga del gato poseen una superficie lisa con pronunciada forma oval, redondeada por ambos extremos, inicialmente su color es blanco perlado transparente y se oscurece ligeramente con el tiempo, mide entre 0.5 x 0.3 mm y son identificables a simple vista. Inicialmente el corion del huevo es húmedo, al secarse se desprende del pelaje, así, en menos de ocho horas cerca del 70% de los huevos será desalojado del hospedador (Krümer, 2001).



Fotografía 3 y 4. Fotos de huevos en estrato de tierra

La pulga del gato se ha adaptado al aumentar su capacidad reproductiva, posiblemente debido a la alta mortalidad de los estados inmaduros, particularmente de la larva 1, que esta expuesta a cambios extremos de temperatura y humedad relativa (RH), la tabla 2 nos muestra algunos ejemplos de posibles variaciones en ambos factores y sus efectos en la supervivencia (Krümer, 2001).

Combinación de las temperaturas y humedades para la incubación de huevos de pulga			
	Temperatura	Humedad Relativa	% Supervivencia
Condiciones controladas	16°C	70%	53 %
	16°C	100 %	92 %
	27°C	≥50%	≈100%
Condiciones Ambientales	55°C	72-92%	varian
	55°C	<72%	0 %
	35°C	-	0 %
	24 +/- 1°C	65 +/-5 %	70 %

Tabla 2. El tiempo requerido para incubar se incrementa de 1.5 a 6.0 días cuando la temperatura disminuye de 32 a 13°C. Una exposición a 3°C/día mata al 65% de los huevos., largas exposiciones provocan la muerte. Cuando la temperatura disminuye en el caso de *C. felis* el tiempo de incubación se incrementa en función no lineal según Baker y Elharam (1992) por lo contrario en *C. canis*, la humedad relativa (RH) es de mayor importancia en el desarrollo que la temperatura (Modificada de Krümer, 2001).

La ovoposición, puede estar influenciada por diversos factores, Osbrink y Rust (1984) publicaron que la producción de huevos de pulga, esta influenciada por la edad de la hembra, alcanzando su máxima producción de tres a nueve días, además, la cantidad de huevos varía entre hospederos puesto que se encuentra estimulada por estrógenos y corticosteroides en la circulación periférica del hospedador como lo demostraron Rothschild y Ford (1964) con la pulga del conejo; por último, también se han determinado patrones mayores de ovoposición en los periodos de descanso del gato a la mitad de la noche (Trankle, 1989; Krümer, 2001).

2.1.2.2. Fase de larvas

La larva eclosiona del huevo por medio de una espina que presenta en la cabeza, son activas, de color blanco o amarillento (sin alimentar), aparentemente cubiertas con pelo corto, el primer estadio larval tiene aproximadamente 2mm de longitud y el tercero puede medir de 4 a 5 mm, su cuerpo esta constituido por una cabeza amarillenta-café más fuertemente quitinizada que el resto del cuerpo; presenta dos antenas cortas cada una de dos segmentos; su boca masticadora esta constituida por un par de mandíbulas, un par de primeras maxilas y un labio formado por las dos segundas maxilas,. El cuerpo en todos los estadios esta formado por tres segmentos torácicos y diez segmentos abdominales, revestidos por cerdas y dos ganchos

caudales en la zona anal (soportes anales), no poseen patas, se mueven usando los músculos tubulares de la piel en superficies secas, logrando movimientos rápidos, son capaces de frenar mediante el uso de sus partes bucales y con menos efectividad empujando la parte suave del último segmento de su cuerpo, su forma puede confundirse con una larva díptera (Wall, 2001; Krümer, 2001).

Las larvas son fototrópicas negativas, geotrópicas positivas e hidrotópicas positivas por lo que se orientan hacia fuentes húmedas, son altamente sensibles a estímulos táctiles y reaccionan al contacto mecánico, todas estas habilidades permiten a la larva evitar la luz directa del sol y encontrar lugares seguros para esconderse así como protección contra la desecación en su hábitat haciendo posible su supervivencia bajo desechos orgánicos (pasto, rocas, arena o suelo), hendiduras de los pisos, bajo las alfombras o tapetes y en lugares similares; tiene un requerimiento nutricional bajo de sangre seca, por lo que su alimentación con las heces de pulgas adultas suele ser suficiente para su supervivencia y desarrollo, pudiendo alimentarse además de los huevos de la pulga y larvas heridas, las larvas que no se alimentan durante los primeros tres días después de la eclosión mueren, razón por la cual no suelen alejarse demasiado del punto de eclosión (Krümer, 2001).



Fotografía 5. Grupo de larvas 1 de pulga, alimentándose por primera vez con sangre

Kern *et al.* (1999) registró que las larvas de gran tamaño son más resistentes a la desecación que las larvas pequeñas debido a la pequeña superficie por volumen de radio. Estas se cree desarrollan diferencias en el comportamiento a pesar de la temperatura para ser causa de variación entre los estadios de la pulga. Las larvas son más sensibles que los huevos a bajas humedades Silverman identificó en 1981 algunos valores conocidos que se muestran en la tabla 3 (Krümer, 2001).

Condiciones necesarias para el desarrollo de larvas de pulga		
Temperatura	Humedad Relativa	% Supervivencia
-1°C	75%	7%
10	12%	97%
16°C	12%	43%
>35°C	75%	0%
T. óptima	65-85%	>90%
38°C	-	34%
24.4°C	<45% o >95%	0%
24.4°C	78%	óptima

Tabla 3. Todas las larvas pueden tolerar temperaturas arriba de 27°C si la humedad relativa es de al menos 50% (Modificada de Krümer, 2001).

2.1.2.3. Fase pupal.

La preparación de la larva en estadio 3 (L3) para la pupación comienza el día 7 afectada por niveles de hormonas, el insecto, se moverá a un lugar solitario y tranquilo donde preparará el contenido de su canal alimenticio para ser utilizado por las glándulas salivales que secretarán la seda necesaria para el hilado y formación de un capullo suave y resistente con dimensiones de 4 por 2 mm, de tipo espumoso, blancuzco y

pegajoso permitiendo se cubra con polvo y desechos creando un camuflaje perfecto. Los capullos de la pulga pueden ser encontrados en el suelo, la vegetación, en alfombras y en el alimento de los animales (Soulsby 1982; Dryden, 1993; Krümer, 2001).



Fotografía 6. Pupa de pulga con adherencias de tierra y ramas que lo camuflajan

Se ha encontrado que existen tres fases para la formación de una pupa: el primero, es la posición de larva prepupal en forma de "U" comienza a desarrollar la pupa (Fotografía 7), la cual quedará formada en 18 horas si la larva es molestada antes de tiempo puede salir de la pupa y arriba del 40% de estas larvas no volverán a formar una segunda crisálida pero se desarrollará como una pupa de pulga desnuda cuyos tiempos para emerger como adultas son menores a las primeras; la segunda es la verdadera pupa (Fotografía 8) y la tercera es la adulta preemergente, que ha completado su molde imago pupal (Fotografía 9), que simula aún dentro de la pupa la forma de una adulta con sus patas bien definidas (Krümer, 2001).



Fotografía 7
Larva prepupal de pulga
En forma de "U"

Fotografía 8
Verdadera pupa de
pulga.

Fotografía 9
Pupa preemergente en molde
imago pupal

La pupa no es esencial para el desarrollo de la pulga adulta, sin embargo sí ofrece algunos beneficios como: protección contra predadores, en condiciones moderadas de temperatura y humedad la pupa es altamente resistente a la desecación, y a estímulos no producidos por el hospedador (ejemplo: ambientales). El número de días que tarda en convertirse en adulto también dependerá de la pupa, aquellas larvas que se convierten en pupas ligeras permanecerán por menos tiempo que aquellas larvas que se desarrollan en pupas más robustas; las hembras se desarrollan en adultos aproximadamente 16 días más rápido que los machos, si se considera una temperatura de 15.5°C, el número de días para el desarrollo a adultos en hembras es de 19.5 días y 23.5 días en machos (Krümer, 2001).

2.1.2.4. Fase adulta.

La pulga es de color café oscuro, en algunas especies existe un número de espinas grandes en la cabeza y en el tórax conocidas como ctenidios genales y pronatales. El género *C. felis felis*, posee ambos tipos de ctenidios, el genal, situado en la parte baja de la cabeza, con 7-8 espinas y el pronotal situado en el primer segmento torácico, con 16, carece de alas y posee un abdomen altamente quitinoso segmentado en tres partes, comprimido lateralmente que permite el fácil movimiento a través del pelo del hospedador, llegan a medir entre 1 – 8 mm, posee pequeños ojos simples, 6 patas largas, fuertes y adaptadas para grandes saltos; esto puede ser visto especialmente en el tercer par de patas que es mucho mas largo que las otras y con más musculatura (Wall, 2001).

Una importante característica sensorial de la pulga adulta es el sensilio, presente en los segmentos abdominales 9 o 10, este órgano sensorial ayuda a las pulgas en la detección del movimiento del aire y los gradientes de temperatura, en algunas especies también facilita la cópula. Poco antes del sensilio, en la mayoría de las pulgas se encuentra un par de espinas denominadas antesensilio ubicadas en el margen posterior del segmento (Wall, 2001, Gage, 2005).



Fotografía 10 Pulga *Ctenocephalides felis felis*. Posee ctenidios genales y pronales, abdomen segmentado, un par de espinas o antesensilio, un órgano sensorial o sensilio, pequeños ojos simples, seis patas largas y no presenta alas

Los órganos bucales consisten de el labro, que siempre es un esclerito pequeño y carece de importancia taxonómica; una epifaringe, un par del maxilas consistiendo cada una de un estipo que generalmente es triangular y lleva el palpo maxilar, el cual siempre esta formado por cuatro segmentos y una lacinia (conocida antiguamente como mandíbula), que tiene bordes finos o toscamente dentados y es tan larga como la epifaringe, esta y las dos lacinias juntas forman el tubo perforante chupador; el labio, del que solamente los palpos labiales tienen importancia taxonómica; generalmente consisten en cinco segmentos o mas aunque este número puede reducirse a solo dos (Lapage, 1981).

Inmediatamente después de emerger de la pupa, la pulga busca un hospedador para comer, gran variedad de estímulos atraen a la pulgas recién emergidas como son los factores visuales y térmicos que son los responsables primarios para la atracción y orientación hacia un hospedador, los estímulos secundarios, el estímulo táctil a las vibraciones en el suelo y sonidos, la presencia de bióxido de carbono (CO₂), corrientes de aire creadas por un blanco tibio en movimiento que estimulan la locomoción, el olor del hospedador; el estímulo visual ante cambios de intensidad de la luz y presencia de sombras intermitentes modifican la respuesta, por otro lado, sin embargo estos estímulos se ven limitados por el ambiente a su alrededor (Krümer, 2001).

2.1.3. Inmunopatología.

La respuesta a la picadura de las pulgas va de una hipersensibilidad a un estado de desensibilización, donde se observa ligera dermatitis asociada con prurito. En el caso de que los perros y los gatos sufran picaduras en un periodo de varios meses, un porcentaje de ellos puede desarrollar alergia a las pulgas (mas común en zonas cálidas y templadas asociada a intensos síntomas clínicos (Urquhart, 2001; Soulsby, 1988).

Las reacciones de hipersensibilidad tipo I (Anafiláctica inmediata) son aquellas que comprometen una predilección genética, la producción de anticuerpos reagínicos (IgE) y la degranulación de células cebadas, un individuo con predisposición genética que absorbe un antígeno completo responde produciendo un anticuerpo único. La IgE es homocitotrópica y tiene una gran afinidad por los receptores de membrana presentes en las células cebadas de los tejidos y en los basófilos de la sangre. Cuando el antígeno provocador hace contacto con el anticuerpo reagínico específico, se liberan numerosos mediadores inflamatorios que causan daño tisular. Esta reacción se produce en un lapso de minutos y desaparece en forma gradual al cabo de una hora (Scott, 2002).

La alergia a la picadura de las pulgas es una reacción de hipersensibilidad que se desencadena frente a la saliva liberada en la piel, durante la ingestión de sangre. La saliva que la pulga deposita en la piel, contiene histamina o compuestos parecidos a la histamina, un hapteno (un antígeno incompleto) que combinado con el colágeno de la piel del hospedador forma un antígeno alérgico y una variedad de enzimas proteolíticas además de alergenos. Estos químicos inician un reacción inflamatoria en el lugar de la picadura que habitualmente es fugaz y que es seguida de una reacción enzimática en la piel mediada por la secreción de la pulga, las enzimas disuelven parte de los tejidos proporcionándole a la pulga un sitio para su alimentación. Una dermatitis alérgica a las pulgas concurrente resulta cuando el perro desarrolla un reacción de hipersensibilidad a las enzimas que actúan como antígenos (Nesbitt, 2001; Urquhart, 2001).

Las zonas corporales mas afectadas en perros y gatos son la línea media del dorso, parte posterior del cuello, base del rabo, axilas, zona ventral del abdomen y la región inguinal. En los perros las primeras lesiones son costras con pápulas que producen intenso prurito, sin embargo, el daño más grave se lo causan los propios animales al rascarse y morder las zonas afectadas, se producen alopecias y dermatitis húmeda con eczemas, al ser expuestos durante muchos años la piel se engruesa, arruga y pierde el pelo, en estos animales el prurito es mucho menos intenso (Urquhart, 2001).

En el gato, la alergia a la picadura de las pulgas produce el proceso clínico conocido como dermatitis milliar o eczema, fácilmente detectable a la palpación, la piel esta cubierta por innumerables pápulas de color marrón, cubiertas de una costra y que causan un intenso prurito (Urquhart, 2001).

2.1.4. Diagnóstico.

Una infestación de pulgas con una explosión en la población no suele ser difícil de diagnosticar porque, en cierto punto, las pulgas son normalmente obvias. Las pulgas o sus excrementos pueden ser vistos sobre el animal o los dueños tienen evidencias de haber sido picados. Las pulgas tienden a picar a las personas alrededor de los tobillos, pero si una mascota infestada duerme con sus propietarios, las picaduras podrían ocurrir en cualquier parte (Nesbitt, 2001).

El material de identificación es recolectado de las zonas corporales más afectadas y puede ser ubicado sobre un papel humedecido, si el material recolectado torna el papel blanco humedecido en rojo-amarronado, implica que algo del material era sangre digerida, si se observa con lupa, puede revelar huevos y larvas (Nesbitt, 2001).

La historia o la observación de la infestación por pulgas, es la base más importante para el diagnóstico de la dermatitis por pulgas, en especial si las otras causas posibles de los signos clínicos han sido descartados por medio de raspados de piel, cultivos micológicos, dietas de prueba y pruebas intradérmicas de alergia. Los signos clínicos localizados en el dorso, perineo y el abdomen caudoventral son sugerentes, además como parte de una base de datos mínima, una evaluación de la materia fecal en busca de parásitos y un hemograma completo para determinar anemia o eosinofilia periférica resultan de utilidad (Nesbitt, 2001).

2.1.5. Control.

Las pulgas tienen un lapso de vida definido suelen desprenderse después del acicalamiento, pueden ser deglutidas, en especial por los gatos; tienen mejor eficiencia reproductora cuando se alimentan de un animal alérgico, no pueden ser ignoradas y no siempre desaparecen por sí mismas. Por lo tanto es necesario el tratamiento regular sistemático de todas las mascotas además de los patios y jardines, el tratamiento incorrecto de alguna área en especial de casa, puede anular la eficacia de cualquier programa de control, en general se emplean pesticidas en los animales y en su medio ambiente. La mayor parte de los pesticidas tienen cierto grado de actividad residual y se pueden acumular en el animal y en su medio ambiente luego de su aplicación repetida (Scott, 2002).

2.1.5.1 Ambiente externo.

Como los huevos de pulga caen al suelo es factible que el patio o jardín donde se encuentra la mascota esté sembrado con sus propias pulgas así, también en el caso de perros, gatos extraviados o animales silvestres. Las pulgas pueden sobrevivir durante el invierno en las madrigueras de los animales, durante la primavera y el verano, la tasa de reproducción de las pulgas aumenta (Scott, 2002).

Las áreas que frecuenta la mascota se deben limpiar con regularidad para eliminar detritos orgánicos y luego tratar con un pesticida aprobado para uso en exteriores. Se dispone de formulaciones de carbamatos u organofosforados en polvo, líquidos y en granos (Scott, 2002); entre los productos utilizados se encuentran:

Carbamatos. Los carbamatos inhiben la acetil colinesterasa (ACE), enzima responsable de la destrucción y terminación de la actividad biológica del neurotransmisor acetilcolina (AC). Con la acumulación de AC se altera el funcionamiento normal de las fibras nerviosas. El antídoto de elección es la atropina (Scott, 2002):

- Carbaril o sevin. Es el más comúnmente usado, su toxicidad en mamíferos es baja. En perros y gatos es utilizado solo en combinación con sinergistas, los productos contienen de 0.5-1 % de Carbaril. Desafortunadamente las pulgas y las garrapatas han desarrollado resistencia en muchas áreas (Adams, 2003).

Los carbamatos líquidos no microencapsulados tienen una acción residual más leve que las formulaciones en polvo o en gránulos. En fechas recientes se ha comenzado a comercializar un nuevo sistema biopesticida, este producto contiene nematodos inofensivos *Steinernema carpocapsa*, que eliminan a las larvas y pupas de pulgas del césped y del suelo. Aun no se ha establecido el nivel de eficacia de este sistema (Scott, 2002).

2.1.5.2 Ambiente interno.

La casa es el lugar que ofrece mayor dificultad en el proceso de control de pulgas. Si bien la infestación es más intensa en las áreas de descanso de la mascota, todo sector que esta atravesado o visitado debe recibir tratamiento (Scott, 2002).

La limpieza completa es obligatoria, la aspiración potente para sacudir el polvo reduce en gran medida la carga de pulgas porque elimina algunos huevos y larvas, las alfombras limpiadas se deben tratar con pesticida y el lecho de las mascotas deberá ser cambiado (Scott, 2002).

Los principios usados junto con los pesticidas para el control de la pulga son los siguientes:

- Borato de sodio. Tiene una actividad ovicida y larvicida rápida, probablemente a través de un mecanismo de deshidratación (Scott, 2002).
- Metopreno. Es un regulador del crecimiento de insectos, es degradado por la luz solar y la aplicación se debe repetir por lo menos cada 30 semanas (Scott, 2002).
- Fenoxicarb y Piriproxifeno. Reguladores del crecimiento, son estables frente a la luz solar y su acción dura de 6-12 meses, pero cuando la casa está infestada, los reguladores del crecimiento solos no son suficientes (Scott, 2002).

2.1.5.3 Tratamiento de la infestación por pulgas.

Ninguno de los pulguicidas disponibles para animales tienen una eficacia del 100 % durante el intervalo completo hasta la siguiente aplicación. Otro problema con estos productos es que su eficacia residual en condiciones de campo puede ser mucho más breve que la hallada por los laboratorios (Scott, 2002).

En condiciones ideales todos los perros y los gatos de la casa deben recibir el mismo tratamiento, aun cuando los problemas alérgicos se concentren en un solo animal (Scott, 2002). Algunos productos utilizados son:

De aplicación local (Pour on). Contienen un insecticida en un vehículo específico. El producto se aplica en una o dos áreas sobre el dorso del animal y el vehículo con la mezcla del insecticida se difunde por completo una manera dependiente de la concentración sobre el cuerpo del animal (Scott, 2002):

- Imidacloprid (Advantage Bayer). Es el primer agente en la clase de insecticida Cloronicotinyl que se une irreversiblemente a los sitios del receptor nicotínico acetilcolina. Este nuevo receptor caracterizado es un subtipo aparentemente esencial para la neurofunción del insecto pero que es diferente en farmacología y distribución tisular de todos los receptores nicotínicos en mamíferos (Bowman, 2003)
- Fipronil (Frontline, Merial). Es un compuesto que pertenece a una nueva familia de insecticidas, los fenilpirazoles. Actúa como un potente bloqueador del canal cloro regulador ácido gama amino butírico (GABA), tiene acción insecticida, acaricida y es eficaz contra pulgas, garrapatas y ácaros. El fipronil se deposita en las glándulas sebáceas y la secreción reabastece el producto en la superficie cutánea (Scott, 2002; Bowman, 2003).
- Selamectina (Revolution, Pfizer). Incrementa la permeabilidad al cloruro o potencia la liberación del GABA en las neuronas presinápticas. El GABA opera como neurotransmisor inhibitorio y bloquea la estimulación postsináptica de la neurona adyacente en nematodos o fibras musculares en artrópodos. Estimulando la liberación del GABA, ocasiona parálisis del parásito, con la resultante muerte del mismo (Plump, 2006)
- Imidacloprid y permetrina (Advantix). Tiene una alta afinidad por los receptores nicotínicos de la acetilcolina en la región post-sináptica del sistema nervioso central (SNC) de los insectos, por lo que da la inhibición de la transmisión colinérgica en los insectos ocasionándoles parálisis y muerte (Adams, 2003).

La permetrina pertenece a la clase de los piretroides sintéticos. Los piretroides afectan la transmisión de los impulsos nerviosos por la interferencia del ión sodio en los insectos. También se les llama bloqueadores de los canales abiertos, resultando en parálisis y muerte del parásito (Plump, 2006)

La combinación de sus ingredientes actúa sinérgicamente y en estudios de laboratorio se ha demostrado que la eficacia de la permetrina contra las garrapatas es mejorada cuando las neuronas se activan simultáneamente por otros estímulos. La función del imidacloprid como activador incrementa la eficacia de la permetrina (Bowman, 2003).

Collares pulguicidas Los collares insecticidas se deben usar en animales con alta exposición en especial para gatos que vagabundean con libertad (Bowman, 2003; Plump, 2006), estos contienen:

- Metopreno o piproxifeno con o sin insecticida y que actúan como agentes de control ambiental cuando se aplican en el cuerpo del animal (Bowman, 2003; Plump, 2006).
- NDichlorvos (DDVP). Similar a otros agentes organofosforados, el dichlorvos inhibe la acetilcolinesterasa interfiriendo con la transmisión neuromuscular en los parásitos susceptibles. Fue el primer producto en ser incorporado exitosamente en un collar antipulgas (Bowman, 2003; Plump, 2006).

Shampoo o crema de enjuague pulguicida. Con la utilización correcta los champúes eliminan las pulgas del animal:

- Deltametrina. Es un piretroide insecticida que aniquila a los insectos por contacto directo o ingestión, la estructura de la deltametrina se basa en la de las piretrinas naturales, por lo cual tiene la capacidad de paralizar al sistema nervioso de los insectos, posee un amplio espectro insecticida y por ello es considerado como uno de los piretroides más potentes. En un estudio eliminó el 100% de las pulgas y el 95% de las garrapatas y evidenció actividad residual superior al 95% por dos a tres semanas (Bowman, 2003; Soulsby, 1987).

Polvos pulguicidas. Estos polvos contienen repelentes, el producto se debe aplicar en la piel, donde llegan a presentar actividad residual prolongada si no se elimina, tienen una aplicabilidad limitada en animales con submanto denso, pelaje corto o grandes áreas calvas, como el talco absorbe el sebo la aplicación repetida del polvo opaca el pelaje y seca la piel. Estos productos son tóxicos y se deben emplear con cautela porque la aplicación demasiado frecuente puede provocar una concentración residual elevada de insecticidas (Scott, 2002)

- Propoxur. Los carbamatos inhiben a la acetilcolinesterasa (ACE) de la misma manera que lo hacen los organofosforados, en insectos, los efectos son principalmente el envenenamiento del sistema nervioso central, porque la unión neuromuscular de los insectos no es colinérgica, como lo es en los mamíferos. Las únicas sinapsis colinérgicas que se conocen en los insectos están en el sistema nervioso central puesto que la transmisión en la unión química neuromuscular de los insectos es el ácido glutámico (Holton, 2003).

Productos pulguicidas sistémicos.

- Lufenuron (Program, Novartis). Se administra vía oral una vez al mes en perros y gatos o mediante inyección cada 6 meses en gatos. El producto se concentra en el tejido adiposo del animal desde donde es liberado, de manera que los niveles sanguíneos normales se mantienen no menos de 30 días con la formulación oral. A medida que la pulga se alimenta absorbe el producto presente en la sangre del animal y luego lo elimina en sus heces. Las larvas que se alimentan con las heces de pulgas medicadas desarrollan defectos endocuticulares y luego mueren. En las pulgas el lufenuron esteriliza los huevos y las adultas mueren a los 7 días de alimentación continua por debilitamiento de cutícula (Scott, 2002)

2.2. Las pulgas como transmisores de agentes infecciosos.

La pulga, como ya se describió funciona como hospedero intermediario y vector en la transmisión de varios parásitos, entre los cuales se encuentra *Dipylidium caninum* (Durin, 1969; Devera, 1998; Krumer, 2001).

Este parásito es frecuentemente transmitido por la pulga, es uno de los parásitos intestinales más común en perros y gatos, su transmisión potencial está en función de la densidad de las pulgas *C. felis*, hospedador intermedio más común, existen otras especies de pulgas y piojos picadores capaces de desarrollar los cisticercoides pero carecen de importancia como trasmisores (Kassai, 2002).

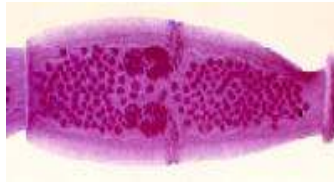
2.3. *Dipylidium caninum*.

2.3.1. Morfología

El adulto mide de 10 a 70 cm de longitud, presenta un escolex pequeño, romboidal el cual posee un rostelo cónico retráctil con filas de ganchos en forma de espinas armado, mediano, apical en forma de clava, su estróbilo consiste en una cadena de proglótidos elípticos que mide de 100 a 700 mm de longitud, una vez maduros y grávidos son mas largos que anchos con forma de semilla de calabaza, cada uno tiene dos dotaciones de órganos genitales, con poros genitales bilaterales. Los huevos son esféricos, con cubierta delgada y hialina, de coloración rojo ladrillo, miden de 25 - 40 μm de diámetro están organizados en grupos de 5 a 30 en una bolsa madre (cápsula ovígera), cada huevo desarrollará un embrión hexacanto llamado así por unos ganchos delgados de 12 a 15 μm de largo que a su vez están envueltos en una membrana embrionaria (Bowman, 1999; Cordero del Campillo, 2000).



Fotografía 11 Gusano adulto de *Dipylidium caninum*. (CDC).



Fotografía 12 Proglótido de *D. caninum* en tinción carmín se observan dos dotaciones de órganos genitales. (CDC).

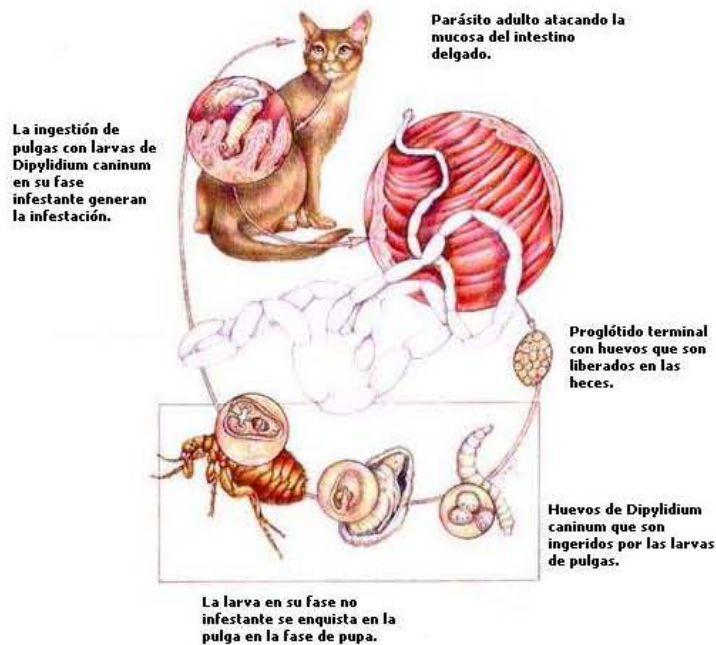


Fotografía 13 Paquetes de huevos de *D. caninum* .organizados de 5 a 30 en una cápsula ovígera (CDC).

2.3.2. Ciclo biológico

Los proglótidos de *D. caninum* eliminados con las heces de los perros les gustan tanto a las larvas de *C. felis felis* que estas llegan a dejar lo que estuvieron haciendo para dirigirse de nuevo al proglótido y devorarlo, por lo que se puede afirmar que son verdaderas fanáticas y que es indudable que estas prefieren los paquetes de huevos de *D. caninum* a las heces de sus progenitores. Las pulgas adultas no pueden infestarse, ya que sus piezas bucales succionadoras especializadas las limitan a una dieta exclusivamente líquida (Kassai, 2002).

CICLO BIOLÓGICO DE *Dipylidium caninum*



Esquema 2. Ciclo biológico de *D. caninum* (Tomado de Casasbuenas, 2005).

El segundo estadio larvario, denominado cisticercoide no invaginado entra a la cavidad hemocelica de la larva de pulga, 24 horas después de ingerido el metacéstodo se observan mortalidades superiores al 60% (mortalidad inicial). El deceso de la pulga (en su fase larvaria) comienza con un estado letárgico y su coloración se torna blanco translucido o rojizo, las causas parecen ser principalmente las lesiones mecánicas producidas en las paredes del intestino de las larvas por la penetración de las oncósferas que emigran al hemocele. Una segunda serie de acontecimientos, que suponen la segunda fase de mortalidad, pueden causar la muerte a un 20% de larvas antes de la pupación, en vez de fabricar sus capullos en el momento adecuado, algunas larvas maduran, vagan o yacen durante días y terminan muriendo; otras larvas tejen sus capullos, pero fracasan en el proceso de pupación, durante el periodo pupal, se presenta la tercera causa de mortalidad de un 10% más de pulgas, debido a la disminución de las reservas en los cuerpos grasos causado por el desarrollo de los cisticercoides y por el desplazamiento y distorsión de cada cisticercoide. Durante un estudio en Viena por Hinaidy (1991), los rangos de intensidad de la infestación se encontraban entre 2.3% para *C. felis* en gatos, 1.2% *C. felis* en perros y 3.1% para *C. canis* en perros siendo las pulgas macho las mas frecuentemente infestadas pero menos intensamente que las hembras (Krümer, 2001).

El desarrollo del cisticercoide en la pupa depende de la temperatura disminuyendo al estar por debajo de 30°C cuando la pulga adulta emerge, se introduce en la cubierta de pelo de un perro o gato aumentando la temperatura a 32°C, completándose su formación en pocos días, si dicha pulga es ingerida por el hospedador definitivo, el cisticercoide se transformará en un gusano adulto dentro del intestino delgado del hospedador definitivo (Lapage, 1981; Kassai, 2002).

2.3.3. El papel de la pulga como hospedero intermediario de *D. caninum* como modelo en el parasitismo por fases larvianas de *Toxocara canis*

Este trabajo parten de la adaptabilidad de la pulga para alojar parásitos y considera la posibilidad de que *C. felis felis*, que es un hospedador obligado en la transmisión de *D. caninum*, sea capaz de actuar como hospedero paraténico del nematodo *T. canis*, cuya infestación se ha logrado inducir en cucarachas y lombrices de tierra.

Puesto que las larvas de pulga, presentan hábitos coprofágicos resulta factible la ingesta de huevos larvados de *T. canis*, pudiendo ser afectadas; persistiendo el parásito hasta la fase adulta con posibilidad de transmisión al ser depredadas e ingeridas.

2.4. *Toxocara canis*.

El *T. canis* es un nematodo cosmopolita con alta incidencia e importancia como problema de salud pública, frecuentemente hallado en el intestino delgado de los caninos, la vía de infestación es oral, por ingesta de hospedadores paraténicos o al ingerir huevos infestantes que eclosionan en la primera porción del intestino; las larvas penetran la mucosa, por circulación portal llegan al hígado y por el sistema venoso al pulmón, posteriormente, por la gran circulación los estadios juveniles se distribuyen en todo el organismo, principalmente hígado, pulmón, corazón y cerebro, en su migración dejan trazos de hemorragias, necrosis y células inflamatorias. Los síntomas dependen del tejido u órgano afectado, de la intensidad de la infección y del grado de la respuesta inmunológica inducida (Quiroz, 1999; George, 2004).

En los caninos, hospedadores definitivos, ésta helmintosis puede ser asintomática o presentar síntomas clínicos de diversa gravedad: diarrea, constipación, vómitos, distensión abdominal, emaciación, tos y descarga nasal; a las lesiones pulmonares debidas a la migración de las larvas frecuentemente se le agregan infecciones bacterianas. Por la obstrucción o suboclusión intestinal, biliar, pancreática o por ruptura del intestino puede sobrevenir la muerte. Los caninos machos y hembras de cualquier sexo, desde los 20 días hasta el año de edad y las hembras mayores de 1 año en celo, preñez o lactancia, actúan como diseminadores de la parasitosis. Las hembras grávidas de *T. canis* ovipositan en la luz del intestino delgado contaminando el medio ambiente con sus heces que contienen huevos de *T. canis*. Ocasionalmente se hallan en heces de machos adultos y hembras en anestro; esto es debido a la ingestión de tejidos de hospedadores paraténicos infectados, como son: la lombriz de tierra, roedores, aves y mamíferos (George, 2004).

Se reconocen diferentes síndromes asociados a la toxocarosis humana como: a) Larva migrans visceral (LMV) o toxocarosis sistémica, cuyas manifestaciones clínicas pueden ser hepatitis, infiltrado pulmonar difuso, asma, neumonía, desórdenes cutáneos, miocarditis, afecciones gastroentéricas y del sistema nervioso central, generalmente acompañadas por moderadas a severas eosinofilia. b) Larva migrans ocular (LMO) o toxocarosis ocular, siempre acompañada por importantes lesiones como leucocoria, uveítis, granuloma retinal o endoftalmitis crónica, disminución de la agudeza visual y estrabismo unilateral con eosinofilia normal o moderada eosinofilia. c) Toxocarosis encubierta (TE) con síntomas inespecíficos como hepatomegalia, dolor abdominal, náuseas, vómitos, letargia, disturbios del sueño y de la conducta, cefaleas, dolor de extremidades, fiebre moderada, adenitis, anorexia con eosinofilia normal o leve (George, 2004).

2.4.1 Epidemiología.

El estudio epidemiológico de la toxocarosis es complejo ya que se deben considerar tres eslabones así como su interconexión: la enfermedad en los cánidos, la contaminación ambiental y la toxocarosis humana (De la Fe. *et al.*, 2006).

La prevalencia de *T. canis* en los perros es muy alta debido a la eficiencia de la transmisión prenatal, por lo que la mayoría de los cachorros nacen parasitados con *T. canis*, dando tasas de positividad desde el 5% hasta más del 80%; estos resultados dependen de la edad, procedencia de los animales, condiciones higiénico sanitarias en áreas de recreación y jardines donde los rangos de contaminación pueden ser tan pequeños como 0 o 1,3 % o tan elevados como 66 o 68,3 %. Las aves que se alimentan primariamente en la tierra (palomas, gorriones) pueden servir como hospedadores de transporte llevando los huevos de *T. canis*

de lugar a lugar en sus patas o en el pico, depositando los huevos en lugares distantes de la fuente (Eguia, 2004; De la Fe. *et al.*, 2006; Radman, 2006).

Los perros mayores de 6 meses suelen tener menos toxocaras adultos en el intestino que los cachorros, particularmente en criaderos cuyas condiciones favorecen la contaminación ambiental con huevos del parásito. Se ha encontrado cierta resistencia relacionada con la edad de los perros previamente infestados por *T. canis*, se tiene constancia de que estos no desarrollan inmunidad protectora y que pueden contribuir de modo significativo a la contaminación del medio con los huevos del parásito (Radman, 2006).

Las larvas somáticas en las perras constituyen el principal reservorio de la infestación. Además, las hembras de *T. canis* son enormemente prolíficas, pues pueden liberar hasta 200 000 huevos por día contribuyendo a la contaminación del medio con los huevos del parásito (Radman, 2006).

No se conoce la real incidencia de toxocariasis humana ya que esta enfermedad no es notificada en el ámbito epidemiológico y es difícil su diagnóstico. La exposición a la toxocariasis resulta de la elevada prevalencia de esta parasitosis en perros y del gran número de animales que comparten el ambiente con los seres humanos. Los huevos de *T. canis* eliminados por el perro no son infestantes y requieren de un período de incubación en el medio ambiente bajo determinadas condiciones para llegar a serlo. Se ha demostrado que los huevos excretados requieren al menos de 2 semanas de maduración con una temperatura de 15 a 35°C para llegar a L-II. Estos huevos son resistentes por su estructura, cáscara gruesa e impermeable, por lo que pueden perdurar viables por períodos prolongados. En EEUU se ha demostrado que entre el 10 y el 32% de las muestras de tierra recogidas en parques y áreas de recreación están contaminadas con huevos de *Toxocara*, aumentando la posibilidad de adquirir el LMV (Ballweber, 1999; De la Fe. *et al.*, 2006).

La transmisión de la toxocariosis al hombre se produce accidentalmente, la población infantil está más expuesta a adquirir esta parasitosis, en orden de importancia los principales factores de riesgo son la geofagia y el contacto estrecho con suelos contaminados con huevos viables, consumo de alimentos contaminados con huevos larvados y el contacto con cachorros infestados. La infestación sistémica por *T. canis* es relativamente común en humanos con rangos de prevalencia que varían entre 3,6 y 86 % en diferentes países. La infestación ocular es menos común que la sistémica (De la Fe. *et al.*, 2006).

2.4.2 Morfología.

Los huevos son subsféricos tienen una cubierta gruesa, finamente granulada, con varias capas concéntricas, de color marrón oscuro, no segmentados, su contenido ocupa prácticamente todo el espacio interior y miden de 85 a 95 por 75 a 90 micrómetros, son resistentes a las condiciones del medio ambiente siempre y cuando exista humedad; la evolución para desarrollar la segunda larva depende además de adecuada temperatura y oxígeno (Borchert, 1981).

Las larvas miden aproximadamente 0.4 micrómetros de longitud por 0.015-0.021 micrómetros de diámetro y son fácilmente distinguibles de las larvas de otras especies. En el medio externo siempre se encuentran en el interior de los huevos (De la Fe. *et al.*, 2006).

El macho mide de 4-10 cm. de largo por 2 a 3 mm de diámetro y la hembra 5 a 18 cm de largo por 2.5 a 3 mm de diámetro, presenta tres labios en el extremo anterior, posee alas cervicales que le dan aspecto de punta de flecha, en el extremo posterior del macho se observan de 20 a 30 papilas preanales, cinco postanales y un estrechamiento terminal en forma de apéndice (Borchert, 1981).



Fotografía 14. Grupo de *T. canis*

Fotografía 15. Comparación de hembra y macho adultos de *T. canis*

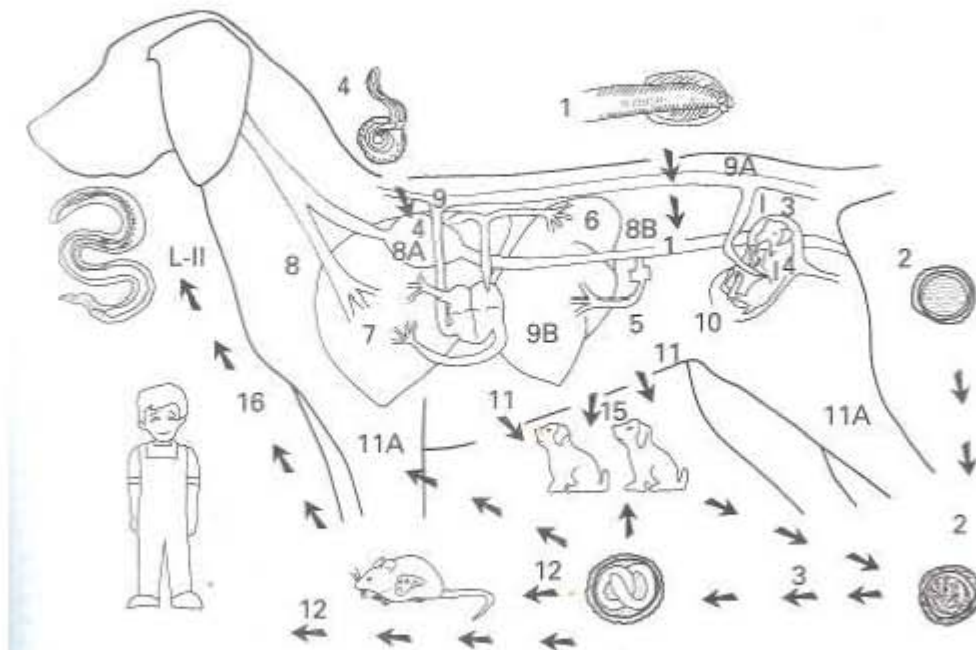
2.4.3 Ciclo biológico.

Los huevos de *T. canis* salen con las heces y se dispersan; en condiciones óptimas de temperatura, humedad y oxígeno, se desarrolla la segunda larva o fase infestante (L-II) que permanece dentro del huevo, después de la primera muda, hasta su ingestión por el hospedador, la liberación de L-II se produce en el perro, pero también pueden intervenir hospedadores paraténicos (roedores, aves, algunos invertebrados, etc.), en cuyos tejidos se encapsulan y permanecen infestantes. La fase infestante dentro del huevo en condiciones adecuadas se desarrolla en 3.5-5 días a 30°C o en 9-11 días a 24°C, o a 37°C se mueren antes de llegar al estado infestante. Los perros se infestan por ingestión de huevos larvados; las larvas eclosionan en el intestino y penetran la pared; la subsecuente migración está determinada por edad, sexo, estado productivo e infestaciones previas (Quiroz, 1999).

En cachorros menores de tres meses, las larvas pasan por vía linfática o sanguínea, a ganglios linfáticos o al hígado, continúan al corazón y pulmones, la mayoría pasa por pulmón, tráquea y esófago. En el intestino se realiza la siguiente muda, que da lugar a la cuarta larva, crece, copula y de 4 a 5 semanas después los huevos salen en las heces. Algunas larvas cuando están en el pulmón regresan al corazón por la vena pulmonar luego son distribuidas por la sangre en varios tejidos en donde permanecen en estado latente principalmente en tejido cerebral y músculo esquelético. En perros adultos y otros hospederos de especie diferente la mayoría de las larvas no llegan al intestino sino que pasan a circulación general permaneciendo en diferentes tejidos dependiendo del sexo, en los adultos ninguna larva alcanza su desarrollo intestinal (Quiroz, 1999).

Cuando inicia el periodo de gestación inmediatamente las larvas en los tejidos mudan (de L-II a LIII) las larvas emigran hacia la placenta y se produce una infestación fetal continuando su desarrollo en el cachorro después del nacimiento [5] eliminando huevos del parásito por las heces 2 ó 3 semanas después. Por otra parte, si la perra no había tenido ninguna infestación y se infesta durante la gestación, las larvas emigran al feto además llegan al intestino de la perra para alcanzar su madurez sexual (Quiroz, 1999).

El desarrollo de las larvas de *T. canis* en los hospedadores paraténicos, ocurre cuando las L-II después de una migración por vía sanguínea quedan enquistadas en diversos órganos, prolongando su supervivencia por largo tiempo (3 a 6 meses o más). La importancia de su participación de los hospederos paraténicos reside en el hecho de que, si son ingeridos por un perro de cualquier edad, sexo, estado fisiológico, el resultado final será la formación, tras migración larvaria traqueal, de parásitos adultos en el intestino delgado del animal que los ingirió; esta situación es la única que puede favorecer la formación de *T. canis* adulto en el intestino de un perro adulto (Quiroz, 1999; Urquhart, 2001).



Esquema 3. Ciclo biológico de *Toxocara canis* (Tomado de Cordero del Campillo, 2000).

Solo los perros jóvenes tienen gusanos adultos de *T. canis* en el intestino; durante el puerperio también las perras pueden albergarlas. 1. Hembra ovopositando. 2. Huevos recién eliminados con las heces. 3. Huevo embrionado con L-II infestante. 4. Esquema de L-II que eclosiona y se libera en el estómago. 5. A las 24-48 horas, las L-II llegan al hígado por vía sanguínea. 6. estas larvas continúan su camino en la circulación, pasando por el corazón hacia los pulmones. 7. las larvas pasan desde los alvéolos a los bronquiolos y bronquios, donde mudan a L-III. 8. las L-III emigran por vía traqueal, son deglutidas con las secreciones y pasan al aparato digestivo, estómago (L-IV), después al intestino (L-V, preadultos) y llegan al estado adulto en 3-5 semanas pi (8b y 1). En perros con más de seis semanas de edad, muchas L-II continúan en la circulación sanguínea y realizan una migración somática hacia los pulmones (9), Hígado (9B), riñones (9A), útero (10), glándulas mamarias (11), músculos esqueléticos (11A), donde se acantonan, deteniendo su desarrollo (larvas somáticas). 12. Esta migración también se da en hospedadores paraténicos como el hombre. 13. En las perras a los 40-42 días de gestación, las L-II somáticas se movilizan hacia la placenta o las glándulas mamarias. 14 poco antes del parto, los fetos tienen L-III en su Hígado, que después del nacimiento continúan su desarrollo y maduran en el intestino del cachorro en 2-3 semanas. 15. A través del calostro también pasan larvas a los cachorros, que se desarrollan directamente a adultos en el intestino sin migrar. 16. los hospedadores paraténicos que poseen L-II en sus tejidos, también originan la infestación cuando son depredados por el perro.

2.4.4. Patogenia.

Las alteraciones en el hospedador en parte son producidas por los gusanos adultos y en parte por las larvas que realizan complicadas migraciones corporales, que corresponden a la gastro-entero-hepato-cardio-pulmonar-gastroentérica, para el caso de cachorros y adultos infestados por primera vez en tanto la entero-neumo-somática en caso de reinfestaciones (Quiroz, 1999).

Las larvas de *T. canis* en feto a nivel de hígado, pulmón y cerebro, ejercen acciones mecánicas, expoliatriz, traumática, tóxica y antigénica, este tipo de lesiones también se observan en la placenta. Aparte de cierta irritación intestinal provocan, necrosis hepática, microscópicamente comprobable y lesiones que se hacen crónicas y en los pulmones conducen a infiltraciones edematoso-sanguinolentas y focos inflamatorios; causan reacciones inflamatorias en todos los lóbulos pulmonares sin predilección por determinadas partes del parénquima. Los focos hemorrágico-celulares de un promedio de 3-6 mm de diámetro, se distribuyen a distancias de 1-3 cm por todo el tejido respiratorio, con independencia de la intensidad de la infestación, esta

reacción se caracteriza por un acumulo masivo de eosinófilos que, junto con sangre y exudado solo desaparecen muy lentamente, además un estado irritativo evidente y general en los intersticios alveolares, hiperemia, tumefacciones del endotelio y activación de las células reticulares de los folículos. Las investigaciones bacteriológicas muestran la existencia de una flora microbiana mucho más rica que en los pulmones sanos, la presencia de *Pasteurella multocida* se comprobó casi con regularidad en el material lesionado por los parásitos, llegando a la conclusión de que son un factor predisponente para el desarrollo de neumonías (Borchert, 1981).

Esto último, genera una reacción inmunológica que induce patología inflamatoria sin la presencia de larvas en el pulmón, esta inflamación bronquial coincide con edema perivascular y peribronquial (Alcaino, 2002).

La larva de *T. canis* en el hombre (hospedador parásitico) produce un complejo sintomático, denominado LMV que se caracteriza por una fuerte eosinofilia de la medula ósea y de la sangre periférica así como por la formación de granulomas (granulomatosis larvaria) en los diversos órganos a los que llegan alcanzan hasta 2 mm de tamaño y pueden calcificarse. Estas lesiones que ante todo han de considerarse alérgicas o hiperérgicas fueron relacionadas con los infiltrados pulmonares eosinófilos, pasajeros, demostrables mediante rayos X, en el llamado síndrome de Löeffler (Borchert, 1981).

La acción nociva de los ascáridos adultos sobre el organismo parasitado, es de diversa naturaleza, se alimentan a expensas del contenido del intestino delgado y cuanto mayor sea su número, tanto mas evidentes son los trastornos de la nutrición. Con los bordes dentados de sus labios pueden lesionar la mucosa intestinal, de tal manera que provocan alteraciones en ella que deben considerarse como puertas de entrada para bacterias y toxinas y que en infestaciones masivas pueden conducir a catarro entérico crónico ligado a hemorragias de la mucosa y formación de úlceras. También puede obstruirse la luz intestinal mecánicamente, a consecuencia de la formación de ovillos de gusanos, a veces en grado tan intenso que solamente permite el paso de alimentos líquidos. En los animales se produce oclusión intestinal, penetración de los gusanos en el páncreas, compresión del conducto colédoco y con ello ictericia por retención. Los ascáridos llevados al estómago por los movimientos antiperistálticos pueden ser vomitados, lo cual es frecuente en gatos, llegan a perforar la pared intestinal produciéndose peritonitis purulenta mortal. Los productos metabólicos de los gusanos vivos y los de desintegración de los muertos son absorbidos y actúan toxicamente sobre el sistema nervioso central del hospedador (Borchert, 1981).

2.4.5 Lesiones.

La migración de las larvas da lugar a lesiones hemorrágicas en hígado, pulmón, riñón, tejido muscular y cerebro dependiendo del número serán mas o menos evidentes. En cachorros con infestación prenatal o antes de los tres meses, pueden mostrar sobre todo neumonía, con marcados focos inflamatorios a través de los pulmones con exudado y en perros adultos las larvas enquistadas provocan una inflamación crónica en los tejidos; algunas son destruidas por la respuesta inmune del hospedero y otras forman granulomas eosinofílicos (López, 2003).

Las formas juveniles y los adultos en el intestino causan enteritis catarral, algunas veces con perforación intestinal y peritonitis, sobre todo en cachorros. Un estado de desnutrición es evidente con la presencia de un abdomen abultado, mucosas pálidas y gran cantidad de gusanos en el intestino delgado, algunas veces se encuentran en el estómago manifestándose con distensión abdominal. La presencia en hígado ocasiona cierto grado de colangitis con éstasis biliar por obstrucción y en pulmón la neumonía recurrente (síndrome de Löeffler) es característica (López, 2003).

La presentación ocular incluye endoftalmitis granulomatosa, fibrosis en las bandas de tracción, retinitis, uveitis, deformación o desprendimiento de la retina infiltración de las células inflamatorias en el humor vítreo, panuveitis, lesiones hemorrágicas, neuroretinitis como secuela de la migración de la larva en retina (López, 2003).

2.4.6 Signología.

Las manifestaciones clínicas son variables y dependen de los siguientes factores: número de huevos infestantes ingeridos, cantidad de larvas migrantes, tejido u órgano afectado, frecuencia de reinfestaciones y respuesta inmunológica inducida por el hospedador (Alcaino, 2002).

Las infecciones moderadas normalmente no cursan con manifestaciones apreciables en la fase de migración intraorgánica. En cambio, las intensas pueden manifestarse por tos, taquipnea, flujo nasal y síntomas nerviosos de intranquilidad, que podrían deberse a la acción irritativa generada por los adultos en el intestino, o bien a las larvas erráticas en el SNC. Paralelamente, se observan alteraciones digestivas como emisión de heces blandas, a veces diarreicas y con frecuencia se acompañan de abundante mucosidad y sangre. El abdomen está muy dilatado, con reacción dolorosa a la palpación, además de la eliminación de nematodos con los vómitos o de forma espontánea en las heces. El raquitismo que se observa con frecuencia en los cachorros puede obedecer a invasiones intensas por ascáridos (Shore, 2001).

El curso crónico ofrece una progresiva desnutrición con o sin diarreas intermitentes y, a veces, manifestaciones nerviosas convulsivas periódicas. Hay un considerable retraso del crecimiento de los cachorros, con anemia y delgadez, pelo hirsuto y en algunos casos causan peritonitis (Shore, 2001).

Los perros adultos muestran estos síntomas solo en casos de una infestación primaria o en casos de reinfestación con una infestación primaria anterior débil y, por consiguiente con insuficiente inmunidad; también es posible la aparición de la enfermedad en situaciones de estrés y a consecuencia de otras infestaciones. En caso de existir una inmunización, mueren las larvas al atravesar la pared intestinal (Radman, 2006; Mehlhorn, *et al.*, 1993).

En el síndrome de LMV se observan desde afecciones gastrointestinales (anorexia, vómitos, dolor abdominal, hepatitis, etc.), pulmonares (tos, asma, disnea, neumonía eosinofílica severa, etc.), cardíacas (miocarditis, insuficiencia cardíaca, etc.) y cutáneas (eritema, urticaria, edema, etc.), acompañándose usualmente con eosinofilia persistente de moderada a severa (Alcaino, 2002).

En el síndrome de LMO las lesiones son siempre graves (leuocoria, uveítis, granuloma retinal, endoftalmítis crónica, pérdida de la agudeza visual, estrabismo, etc.) y se acompaña con valores normales de eosinófilos. La toxocarosis cerebroespinal presenta sintomatología neurológica como encefalitis, meningitis, epilepsia, parestias, parestesias, etc. y cursa con una marcada eosinofilia (Alcaino, 2002).

La toxocarosis encubierta o asintomática cuando se manifiesta clínicamente la sintomatología es inespecífica y puede cursar con cifras normales o un leve incremento de eosinófilos (Alcaino, 2002).

2.4.7 Inmunidad.

Las larvas producen macromoléculas de naturaleza glúcoproteica, conocidas como antígenos de secreción y excreción (TES), son producidas en las glándulas esofágicas del parásito y crean una barrera protectora sobre el cuerpo del nematodo que lo aísla del hospedero. Los TES son depositados temporalmente en la superficie cuticular (la epicutícula) del gusano pero su unión con la misma es fácil de romper al reaccionar con los anticuerpos y granulocitos del hospedero, durante la interacción estos se desprenden, constituyendo un excelente mecanismo de evasión de la respuesta inmune del parásito (Martínez, 2005).

Los TES-120 (Mucinas: Tc MUC-1, Tc MUC-2, Tc MUC-3, Tc MUC-4, Tc MUC-5) son el mayor componente de la cubierta de las larvas de *T. canis*. La mucina es una proteína presente en forma normal en los epitelios de los organismos superiores, es secretada por células especializadas cumpliendo su función de recubrimiento que aísla las superficies celulares desempeñando una función protectora, tienen una relación muy cercana con las capacidades de adhesión de las células. Las mucinas tales como la MUC-1 pueden proteger la superficie luminal de las células endoteliales del daño potencial derivado de los procesos oxidativos relacionados con los macrófagos y de este modo los efectos de la respuesta inmune del hospedero se desvían haciéndolos ineficientes. La presencia de estos compuestos en la superficie del cuerpo de los nemátodos puede asociarse a una condición mimética en primer término, que se complementa con su renovación constante derivada de su desprendimiento por razones ya explicadas (Martínez, 2005).

El TES 32 esta ubicado en eje externo de la epicutícula de las larvas, se ha sugerido que puede servir como un elemento que permite extender las mucinas en la superficie del nematodo, participando de esta manera en el proceso de morfogénesis de la cubierta de los parásitos. Mimetiza con las proteínas que forman parte del sistema inmune de los hospederos o compite con las selectinas de superficie de las células del hospedero, son factores solubles que pueden resultar más efectivos por esa propiedad, lo cual puede dar como resultado el bloqueo de la adhesión de los leucocitos a las paredes vasculares, para prevenir las primeras etapas del proceso de infiltración tisular, característico de la respuesta inflamatoria la exposición continua del hospedero a grandes y constantes cantidades de antígenos secretores y excretores inducen un fenómeno de autoinmunidad a nivel muscular que origina una miositis crónica, proceso asociado al desarrollo de autoanticuerpos contra las fibras musculares (Martínez, 2005).

Los TES activan inespecíficamente a los linfocitos B, induciendo producción policlonal de inmunoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina E (IgE). Se ha planteado que los TES funcionan como potentes mitógenos de los linfocitos B esta activación no específica produce grandes cantidades de anticuerpos inespecíficos (Martínez, 2005; Fernández, 2004).

También se ha encontrado que estos productos son capaces de neutralizar algunos de los componentes del complemento y a los anticuerpos IgG que podrían ser importantes en la destrucción de las larvas (Jane et al., 1987). Además, se ha identificado la producción de una gran variedad de sustancias las cuales cumplen diversas funciones en la interacción parásito-hospedero y químicamente corresponden a: mucinas, lectinas, proteasas, inhibidores enzimáticos y otros (Martínez, 2005).

2.4.7.1. Los eosinófilos en la toxocariosis.

En las zonas de migración de las larvas, principalmente en hígado, la respuesta inflamatoria, es mediada por los linfocitos T2 CD4+ tipo 2 (Th2) al producir citocinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-3), estos productos son importantes para la producción de anticuerpos y tienen actividad represora, aunque las respuestas mediadas por linfocitos T1 CD4+ Th1, pueden ser reguladas de forma cruzada por las citocinas producidas por las células Th2 que actualmente se ha observado, son también producidas por otras células (Martínez, 2005).

La IL-4, induce una respuesta policlonal por IgE e IgG asociada a los linfocitos B (estímulo mitogénico) que contribuye a una mastocitosis, estos responden a la unión de antígeno por anticuerpos IgE de superficie, reclutando y activando basófilos y eosinófilos, que se asocian a una respuesta inflamatoria al producirse su degranulación, además induce a los macrófagos a producir la IL-1, que estimula a los linfocitos B y a los eosinófilos pero colateralmente deprime a las células Th1, produciendo grandes cantidades de anticuerpos no específicos, que pueden cubrir los determinantes antigénicos en los parásitos distrayendo la respuesta inmune. La IL-6 se asocia con la respuesta de fase aguda, contribuye al incremento policlonal en gammaglobulinas por inducción de diferenciación de células B a células plasmáticas. La IL-5 estimula la producción de eosinófilos, siendo un factor quimiotáctico, promueve su diferenciación, degranulación, producción elevada de superóxidos y citotoxicidad dependiente de anticuerpos, además prolonga su supervivencia requiriéndose muy pequeñas cantidades de esta citosina para inducir la eosinofilia (Martínez, 2005; Janeway 2003).

Por medio de sus receptores de IgE, los eosinófilos se unen a parásitos opsonizados, activándose y liberando los mediadores tóxicos, también producen un incremento de oxígeno tóxico y leucotrienos, son capaces de producir citocinas como factor de crecimiento tumoral beta (TGFβ) (que promueve la producción de colágena y el desarrollo de fibrosis), inducir la producción de IL-5, IL-3 y GM-CSF que favorece la supervivencia de estas células, C-C quimiosina RANTES y eotaxina que son quimioatrayentes y potentes activadores de los eosinófilos (Thakur *et al.*, 1998; Martínez, 2005).

Esta infestación, induce un incremento policlonal inespecífico en la IgE (10 a 15 veces la normal), las IgE específicas para los helmintos, aparecen al final del incremento definitivo de estas. Se ha encontrado que en las fases tempranas de diferenciación de los parásitos intestinales son bastante susceptibles a la destrucción inmunológica mediada por anticuerpos IgA sin poderse excluir la presencia de IgG y

complemento); en modelos experimentales se ha demostrado que esta respuesta es responsable de la inmunidad concomitante, fenómeno bastante general entre las parasitosis por helmintos (Lebreux, 1997).

2.4.8. Diagnóstico.

Los exámenes coproparasitológicos son de utilidad sólo para la detección de huevos de *T. canis* que son desalojados junto con las heces principalmente en los cachorros que con frecuencia eliminan nematodos espontáneamente con el vómito o las deyecciones, la necropsia y la observación de las lesiones hepáticas, pulmonares, renales, junto con la demostración directa de los nematodos en el intestino delgado, confirman el diagnóstico (Shore, 2001).

2.4.8.1. Detección del parásito en el suelo

Se han ensayado una gran cantidad de técnicas para la identificación o cuantificación de huevos de *T. canis* y de otros parásitos en muestras de suelo que se basan de forma general en la filtración y combinación de sedimentación y flotación en soluciones sobresaturadas. La recuperación de huevos de *T. canis* precedentes de muestras de suelo depende de las condiciones ambientales, su textura, elección del sitio de muestreo, tipo de lavado o colado, tamaño de la muestra, número de muestras. El conocimiento del grado de contaminación de la tierra nos da la medida del riesgo potencial para la transmisión de la toxocariosis (De la Fe. *et al.*, 2006).

2.4.8.2 Diagnóstico en humanos.

El diagnóstico clínico de la infestación humana por *T. canis* resulta difícil debido a que la sintomatología es inespecífica y similar a la de otras patologías, el parásito adulto no se encuentra en heces, así como tampoco sus huevos y el hallazgo de las larvas en tejidos mediante biopsias de los granulomas es un hecho excepcional. Por lo tanto la demostración de anticuerpos específicos en suero es la única herramienta útil y confiable (Bojanich, 1998).

Se han descrito numerosos métodos inmunológicos empleando diferentes antígenos parasitarios, como la hemoaglutinación, floculación, fijación de complemento y más recientemente los enzimoimmunoensayos (Bojanich, 1998).

2.4.8.3. Correlación con serología positiva.

La seropositividad es el marcador más importante de las infestaciones por *T. canis* en humanos, no obstante no indica necesariamente la relación causal entre la infestación por *T. canis* y un paciente con una enfermedad en curso. La medición de los antígenos de secreción/excreción puede ser más útil que las pruebas de anticuerpos al estimar la duración de la enfermedad ya que provienen de las larvas activas, además, la variación de estos antígenos en el suero o en el fluido intraocular acompañado de los datos clínicos, ayuda a la valoración del tratamiento. En el caso de la infestación ocular puede incluir a una sola larva o puede ser que muchas o pocas hayan atravesado el intestino y estimulado a la respuesta humoral, debido a esto es la variación en los títulos de anticuerpos en la toxocariasis ocular (TO) siendo entonces no estandarizable. La intensidad de las pruebas serológicas es medida por densidad óptica (DO) o por niveles de dilución, los casos con DO menor que 1,200 raramente son sintomáticos y reflejan infecciones muy recientes, viejas u oculares, a DO igual a 1,800 es aceptada en la práctica como el límite entre toxocariosis sintomática y asintomática (De la Fe. *et al.*, 2006)

Las pruebas para detectar los antígenos de excreción/secreción son sensibles y específicas permitiendo detectar la infestación por los estados larvarios en los humanos (síndrome de larva migrans visceral). También se han investigado otros componentes antigénicos para diagnosticar la toxocariasis del perro, las pruebas más usadas son (Kassai, 2002):

- I. Inmunofluorescencia. El método de inmunofluorescencia indirecta es muy sensible. Como antígenos, se utilizan cortes del parásito o muestras de extractos adsorbidas en portaobjetos; es una técnica sencilla que no requiere mucho tiempo, aunque su utilidad se ve limitada por la necesidad de instrumentación especial (Kassai, 2002).

- II. Inmunoblot: emplea una electroforesis inversa en membranas de difloruro de polivinilideno (PVDF) o nitrocelulosa, donde las proteínas se unen de manera inespecífica y se identifican con posteridad por tinción de Ac marcados (Roitt, 2003).
- III. ELISA. La serología, mediante ELISA usando antígenos de secreción-excreción, tiene una sensibilidad del 80 % y especificidad de 90-95 % que es superior en pruebas de Inmuno-blot. Los resultados falsos positivos pueden ocurrir en infestaciones con *Strongyloides*, *Trichinella* y *Fasciola*. los falsos negativos son raros y ocurren solamente en infestaciones muy recientes o muy viejas como es el caso de la LMO. Se ha empleado la prueba ELISA "sandwich" mediante el uso de un anticuerpo monoclonal que reacciona con la proteína soluble de secreción/excreción de 120 kDa, esta prueba confiere ventajas como la disminución de las reacciones falsas positivas (De la Fe. *et al.*, 2006).

2.4.8.4. Altos niveles de IgE.

Los anticuerpos IgE producidos contra *T. canis* están presentes en la toxocariosis en humanos (54 %) y son altamente específicos. El nivel total de IgE es proporcional al nivel de anticuerpos IgE específicos contra *T. canis*, este es más alto en pacientes sintomáticos (35 %) que en asintomáticos (24 %) y es directamente proporcional al de IgG. En personas con signos cutáneos de alergia relacionados con *T. canis*, los niveles totales de IgE altos son más frecuentes que la eosinofilia (De la Fe. *et al.*, 2006).

2.4.8.5. Eosinofilia.

El hallazgo de laboratorio más significativo es la eosinofilia intensa, que coincide con la fase de migración larvaria y que fácilmente supera el 50 % en la primera semana de vida. La actividad enzimática de GLDH y ALT aumenta notablemente durante esta fase de migración, con niveles máximos a los pocos días del nacimiento (Shore, 2001).

La eosinofilia medida en sangre periférica es proporcional a la eosinofilia hística que es la reacción local a las larvas de *T. canis* por parte de los antígenos presentes en los tejidos luego o durante la migración. Los eosinófilos son el componente más abundante en el infiltrado celular o granuloma, su papel en la liquidación de las larvas de *T. canis* es menos conocido que en otras parasitosis, probablemente debido al extendido período de invasión y también al desarrollo de mecanismos de evasión específicos por las larvas de *T. canis* contra el ataque eosinofílico. La eosinofilia presente en pacientes seropositivos refleja la actividad del proceso patológico y esto juega un papel importante en decidir el tratamiento subsiguiente. Usualmente la intensidad de eosinofilia se corresponde con la intensidad de infestación y también con la respuesta serológica. La eosinofilia no está presente en el 73 % de los casos de TE, tampoco en el 9 % de aquellos con el síndrome LMV ni en el 81 % de los sospechosos de TO (De la Fe. *et al.*, 2006)

Las helmintiasis tisulares están asociadas en la mayoría de los casos con una eosinofilia elevada y una alta leucocitosis; con cifras del 20% al 90%, pudiendo mantenerse por años, incluso post-tratamiento, sin embargo existen diversas causas por las que aumenta el conteo de leucocitos totales no siendo este un buen marcador para la toxocariosis clínica (Kassai, 2002).

2.4.8.6. Histopatología.

En los seres humanos se cuenta con el método directo de diagnóstico que consiste en la observación directa de larvas de segundo estadio en el material histológico obtenido por biopsia. El material debe ser suficientemente grande y procesada por un patólogo de experiencia pues pueden pasar inadvertidos, esto unido al riesgo para la vida del paciente que implica en algunos casos la biopsia, constituye la desventaja del método directo en el diagnóstico de la toxocariosis humana (De la Fe. *et al.*, 2006).

2.4.9. Control.

La prevención se dificulta si los perros tienen acceso a lugares donde es factible el desarrollo de huevos como prados y pisos de tierra con cierto grado de humedad y contaminación fecal. Los huevos infestantes de todas las especies de ascáridos pueden permanecer viables en el medio exterior desde meses hasta años bajo condiciones óptimas debido a la gran resistencia de su cubierta externa. Esta capa acelular permite a los huevos resistir altas concentraciones de formalina, ácidos inorgánicos, variaciones extremas de

temperatura y varios grados de humedad. Las estrategias futuras para reducir el número de huevos infestantes en el suelo deben encontrar una vía novedosa para abrir brecha en su capa externa que protege a la larva del ambiente externo (De la Fe. *et al.*, 2006).

Es importante prevenir la infestación vertical intrauterina y la transmisión transmamaria mediante la quimioterapia; se puede conseguir instaurando tratamientos preventivos para los cachorros que eviten las infestaciones latentes para ello se conocen una serie de principios empleados siguiendo diferentes estrategias de utilización (Kassai, 2002).

El mejoramiento de las condiciones higiénicas para eliminar los huevos y retiro de la materia fecal de cachorros, además se recomienda evitar que se le agregue agua al excremento presente sobre prados de jardines o parques públicos. Control de roedores, así como evitar la ingestión de estos por parte de los perros (Uquhart, 2001).

2.4.10. Terapéutica.

A. Sales de piperazina (Véase Tabla 4). Se considera que ejerce efectos "curarizantes" sobre los nematodos susceptibles, con lo cual paraliza o narcotiza al gusano, permitiendo que sea eliminado con la materia fecal. El efecto bloqueante neuromuscular estaría causando por el bloqueo de la acetil colina en la unión mioneural. En los ascariis, también se inhibe la producción de ácido succínico. Los gusanos maduros son mas sensibles a la acción de la piperazina que las fases jóvenes (Adams, 2003; Plump, 2006).

B. Pamoato de Pirantel (Véase Tabla 4). Actúa como agente bloqueante neuromuscular despolarizante en los parásitos. La droga posee propiedades nicotínicas y actúa del mismo modo de la acetilcolina. También inhibe a la colinesterasa. (Holton, 2003)

C. Mebendazol y Febendazol (Véase Tabla 4). Actúan principalmente uniéndose a la tubulina de los nemátodos, impidiendo la mitosis celular, el ensamblaje de las proteínas y el metabolismo energético. (Holton, 2003)

D. Nitroscanate (Véase Tabla 4). Actúa contra nematodos y céstodos su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la síntesis de trifosfato de adenosina, incrementando los valores de monofosfato de adenosina (AMP), situación que altera la producción de energía en el parásito, ocasionándole la muerte (Holton, 2003; Sumano, 1995).

E. Febantel (Véase Tabla 4). Es un probencimidazol que actúa impidiendo la absorción de glucosa por parte de los parásitos, causando su muerte por inanición. Después de la absorción intestinal, este compuesto es biotransformado en el hígado en metabolitos activos, principalmente en Febendazol. El largo período de vida media y la lenta metabolización en sustancias inactivas permite mayor eficacia de los componentes de este grupo (Holton, 2003).

F. Ivermectina (Véase Tabla 4). La ivermectina es una lactona macrocíclica producto de la fermentación del actinomiceto *Streptomyces avermitilis*. Puede ser almacenada en los adipocitos, de donde es liberada en forma lenta. Su mecanismo de acción radica en la estimulación de la descarga del ácido gama amino butírico (GABA) y el aumento de la fijación del mismo a los receptores especiales de las uniones nerviosas de los parásitos (Holton, 2003).

G. Citrato de Dietil-carbamacina (Véase Tabla 4). Es un derivado piperazínico de acción, microfilaricida principalmente y macrofilaricida, aunque en menor medida. Produce alteraciones neuromusculares y en la superficie de las microfilarias (Holton, 2003).

H. Milbemicina oxima (Véase Tabla 4). La milbemicina pertenece al grupo de las lactonas macrocíclicas, aisladas de la fermentación de *Streptomyces hygroscopicus var. aureolacrimosus*. De los análogos seleccionados, el de uso corriente con fines terapéuticos es la Milbemicina A3/A4 oxima (ratio < 20 : > 80). Es eficaz contra los estadios larvarios (L3, L4, y microfilarias) de *Dirofilaria immitis*, y posee actividad antihelmíntica frente a los nematodos siguientes: *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Ancylostoma caninum*. La

actividad de milbemicina se correlaciona con su acción sobre la neurotransmisión en los invertebrados: potencia el efecto del GABA (ácido gamma-aminobutírico), inhibidor de la transmisión neuromuscular, causando parálisis (Holton, 2003).

2.4.11. Aspectos zoonóticos.

La toxocarosis puede afectar a humanos de diferente sexo y edad, en especial niños; en el hospedador paraténico las manifestaciones clínicas son variables y dependen de los siguientes factores: número de huevos infestantes ingeridos, cantidad de larvas migrantes, tejido u órgano afectado, frecuencia de reinfestaciones y respuesta inmunológica inducida por el hospedador es común la ingestión escasa y la ausencia de repercusiones clínicas (Cordero del Campillo, 2000; Martínez, 2005).

T. canis, es el nematodo más asociado con el síndrome de LMV en el hombre, se ha demostrado que puede migrar y vivir en el hígado de pollos y cerdos y sobrevivir en el hígado de monos hasta por 7 años, por lo que no se puede asumir que el humano sea simplemente otro hospedador paraténico (Durin, 1969).

En el hígado, la invasión con larvas causa una reacción con el desarrollo de granuloma. Se presenta hepatomegalia y eosinofilia. La hiperglobulinemia desaparece cuando la fase aguda de la hepatomegalia termina. La recuperación clínica se presenta cuando el hospedador se acostumbra a la presencia del gusano en el hígado. Cuando la larva escapa hacia el lado izquierdo del corazón, pueden derivar hacia el sistema nervioso central en donde son ocasionalmente encontradas en el examen postmortem para casos de encéfalomiélitis. Si las larvas afectan el ojo dan origen al síndrome de LMO, que se manifiesta frecuentemente por retinitis granulomatosa y endoftalmia de difícil diagnóstico (Cordero del Campillo, 2000; Durin, 1969).

En el síndrome de LMV se observan desde afecciones gastro- intestinales (anorexia, vómitos, dolor abdominal, hepatitis, etc.), pulmonares (tos, asma, disnea, neumonía eosinofílica severa, etc.), cardíacas (miocarditis, insuficiencia cardíaca, etc.) y cutáneas (eritema, urticaria, edema, etc.), acompañándose usualmente con eosinofilia persistente de moderada a severa. En el SLMO las lesiones son siempre graves (leucocoria, uveítis, granuloma retinal, endoftalmitis crónica, pérdida de la agudeza visual, estrabismo, etc.) y se acompaña con valores normales de eosinófilos. La toxocarosis cerebroespinal presenta sintomatología neurológica como encefalitis, meningitis, epilepsia, parestias, parestesias, etc. y cursa con una marcada eosinofilia (Radman, 2006).

En la toxocarosis asintomática cuando se manifiesta clínicamente su sintomatología es inespecífica y puede cursar con cifras normales o un leve incremento de eosinófilos. Varios autores relacionan la toxocarosis con un alto conteo de eosinófilos circulantes; sin embargo, otros hallaron una eosinofilia del 77% de los pacientes seropositivos estudiados. Sobota *et al.* Afirman que en la infestación ocular no hay aumento de eosinófilos, mientras que las otras presentaciones clínicas de la parasitosis raramente cursan sin eosinofilia, a excepción de la toxocarosis larval múltiple que se caracteriza por una elevada eosinofilia. Gillespi *et al.* observaron eosinofilia sanguínea en pacientes con toxocarosis ocular (Radman, 2006).

En la toxocarosis neurológica la patogénesis podría ser similar a la de presentación ocular, debido a que el encéfalo como los ojos constituyen medios cerrados. La migración de unas pocas larvas de *T. canis* en el sistema nervioso central (SNC) o en el ojo son suficientes para causar lesión local pero resultarían insuficientes para provocar eosinofilia sanguínea (Radman, 2006).

Fármacos para el tratamiento de infestaciones por ascáridos y ancilostomas en perros y gatos.

Nombre	Vía de Administración / Frecuencia / Dosis	Rango de Eficacia	Aprobada por FDA :	
			Especies	Mínimo Año/Peso
Citrato diethyl-carbamacina ^{1, 10}	Oral 6.6 mg/kg diariamente	DI	Perro	≥8 semanas
	55-110 mg/kg una vez; repetir en 10-20 días	A		
Citrato diethyl-carbamacina ¹ / oxibendazol ^{3, 4, 10}	Oral/diariamente 6.6 mg/kg DEC 5.0 mg/kg OXI	A, H, W, DI	Perro	≥8 semanas y ≥1 lb
Fenbendazol	Oral/diariamente por 3 días 50 mg/kg	A, H, W, T	perro	Ninguno
Ivermectina ^{4, 10}	Oral/mensualmente 24 µg/kg	H, DI	Gato	≥6 semanas
Ivermectina / pamoato de pirantel ^{1, 7, 10}	Oral/mensualmente 6 µg/kg IVM 5 mg/kg PYR	A, H, DI	Perro	≥6 semanas
Milbemicina oxima ^{1, 4, 7, 10}	Oral/mensualmente Perro: 0.5 mg/kg	A, H, W, DI	Perro	≥4 semanas y ≥2 lbs
	Gato: 2.0 mg/kg	A, H, DI	Gato	≥6 semanas y ≥1.5 lbs
Milbemicina oxima / lufenuron ^{1, 4, 7, 10, 11}	Oral/mensualmente 0.5 mg/kg MO 10 mg/kg LUF	A, H, W, DI	Perro	≥4 semanas ≥2 lbs
Moxidectina ^{1, 4, 6, 10, 12}	SC/dos veces al año 0.17 mg/kg	H, DI	Perro	≥6 meses
Piperazina ⁵	Oral/a discreción ver nivel para dosis	A	Perro/Gato	≥6 semanas
Pamoato de pirantel ¹⁴	Oral/a discreción 5 mg/kg	A, H	Perro	≥2 semanas
Pamoato de pirantel / praziquantel ^{4, 13}	Oral/a discreción 5 mg/kg PRA 20 mg/kg PYR	A, H, T, D	Gato	≥1 meses y ≥1.5 lbs
Pamoato de pirantel / praziquantel/ febantel ^{2, 9}	Oral/a discreción 5 mg/kg PYR 5 mg/kg PRA 25 mg/kg FEB	A, H, W, T, D, E	Perro	≥3 semanas y ≥2 lbs
Selamectina ^{4, 7, 8, 10}	Topica/mensualmente 6mg/kg	Perro: DI	Perro	≥6 semanas
		Gato: A, H, DI	Gato	

Tabla 4. (Tomada de Holton and Pepper, 2003).

- A = Ascáridos (*Toxocara* y *Toxascaris* spp.)
- H = *Ancylostoma* y *Uncinaria* spp.
- W = *Trichuris vulpis*
- T = *Taenia pisiformis*, *Taenia taeniaeformis*, *Taenia* spp.
- D = *Dipylidium caninum*
- E = *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*
- DI = *Dirofilaria immitis*

Contraindicaciones:

1. No se recomienda en animales con infestaciones establecidas del gusano del corazón.
2. No se utilice en animales gestantes.
3. No se utilice en animales con disfunción hepática.
4. No es efectivo contra *Uncinaria*.
5. Algunas sales no deben usarse en animales no destetados.
6. Observe el paquete para la técnica de inyección.
7. Seguro en collies en dosis niveladas.
8. También efectivos contra pulgas, huevos de pulgas, garrapatas y ácaros (incluyendo ácaros de los oídos).
9. Repetir cada 21 – 26 días para el control de *Echinococcus multilocularis*.
10. Eficaz contra la etapa del tejido fino de las larvas del gusano del corazón.
11. No es un adulticida en pulgas contiene un regulador de crecimiento del insecto.
12. Efectivo contra las larvas y los adultos del *Ancylostoma* únicamente al momento de la inyección.
13. Consulte con el veterinario antes de usarse en animales preñados.
14. Aprobado para el uso en animales lactantes (administrar 2-3 semanas después del parto).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general: Contribuir al conocimiento de la biología de la pulga *Ctenocephalides felis felis* y del nematodo *Toxocara canis*.

3.2. Objetivos particulares:

- Determinar la probabilidad de infección por las larvas del nematodo *Toxocara canis* en las pulgas *Ctenocephalides felis felis*.
- Determinar el posible papel de la pulga del gato como hospedero paraténico del nematodo *Toxocara canis*.
- Establecer el posible comportamiento que desarrollan los estados larvarios en este hospedero.
- Determinar el porcentaje de asentamiento de estadios larvarios partiendo del suministro de cantidades conocidas de fases infectantes del nematodo por la pulga.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Material Biológico.

a) Huevos larvados de *Toxocara canis*.

1. Se obtuvieron cachorros menores de 3 meses de edad parasitados naturalmente con *T. canis* en el Centro de Control Canino del Municipio de Cuautitlán Izcalli, que fueron sometidos a disección.
2. De estos cachorros, se obtuvieron los *T. canis* adultos del intestino delgado.
3. En el laboratorio de Parasitología de la FES-Cuautitlan, los gusanos, se lavaron con agua corriente, separando las hembras de los machos,
4. Las hembras de *T. canis* se disecaron para la obtención de huevos maduros.
 - Se buscó la vulva de la hembra a una distancia aproximada de 1/3 de la porción anterior hacia la cola del parásito, donde se puncionó para aflorar los úteros extrayendo la mayor cantidad de huevos contenidos en cada uno.
5. Los huevos se colocaron en cajas de Petri con solución salina formolada al 2.5% (para evitar crecimiento bacteriano) en la estufa de cultivo a 15°C de temperatura durante tres semanas para su incubación; hidratándose constantemente con agua destilada
6. Determinación del porcentaje de viabilidad de los huevos de *T. canis* a utilizar.

La viabilidad promedio de los huevos larvados se determinó en base al desarrollo de las larvas en el interior del huevo y a la motilidad de las mismas, de la siguiente manera:

- En un portaobjetos y con la ayuda de una micropipeta semiautomática se colocó la cantidad de 100 μ l de suspensión homogenizada de huevos larvados en cada conteo.
- Se utilizó el microscopio compuesto en objetivo 40X para su observación.
- Se realizaron 10 conteos con el uso de un contador manual, obteniendo los siguientes valores: número total de huevos por 100 μ l de la suspensión, separando el número de huevos no larvados de los huevos larvados, dando a conocer este valor como por ciento de huevos larvados por 100 μ l de la suspensión.
- De los 10 conteos realizados se tomó como valor final, el valor promedio obtenido de huevos viables de *T. canis*.

b) Obtención de huevos de pulga *Ctenocephalides felis felis*.

- En el Centro de Control Canino del municipio de Cuautitlán Izcalli, se realizó la recolección de pulgas adultas; durante el periodo de sacrificio de los animales.
- De los animales sacrificados, se obtuvieron las pulgas adultas, recolectándolas en frascos de vidrio con ayuda de peines de dientes cerrados.
- Se realizó la extracción de los huevos depositados en el frasco durante el tiempo en que las pulgas adultas permanecieron en él, éstos posteriormente fueron reubicados en frascos de vidrio con sustrato de tierra en un ambiente con temperatura entre 15 a 25°C, ventilación y humedad constante.

c) Sangre desfibrinada.

- Se obtuvo sangre vía intra-cardiaca de animales recién sacrificados en el Centro de Control Canino del Municipio de Cuautitlán Izcalli.
- La sangre se recolectó en frascos con esferas de vidrio para desfibrinar la sangre, evitando así su coagulación.
- Una vez desfibrinada, se secaba en capas delgadas sobre cajas de Petri, para obtener un polvo que servía como alimento para las larvas.

4.2 Metodología.

A. La crianza de las Pulgas.

- Se utilizaron frascos de Gerber de tamaño estándar y boca ancha para su manejo bajo el microscopio.
- Se utilizó un sustrato de tierra por su abundancia, facilidad para distinguir huevos y larvas recién nacidas, así como su alto porcentaje en la sobrevivencia de las larvas y por guardar la humedad por mayor tiempo.
- Se proporcionó oxígeno perforando las tapas y recubriéndolas con una tela de malla fina, que permitía la entrada de aire e impedía que las pulgas adultas recolectadas o nacidas se fugaran.
- La alimentación de las larvas recién nacidas hasta el final de su ciclo larvario se realizó con sangre en polvo.

B. Inducción de la parasitosis en la pulga.

- De acuerdo al porcentaje de viabilidad de huevos de *T. canis* obtenido por cada 100 μ l de la solución homogenizada, se determinó la cantidad de huevos a utilizar en cada inóculo.
- Se mezcló la sangre desfibrinada junto con el inóculo determinado de huevos larvados de *T. canis* para obtener el alimento infestante, esta mezcla se procesó en forma de polvo y se suministró a las larvas esparciéndola por medio de un pincel.
- Este alimento se proporcionó a los siguientes grupos:
 - a) Larvas 1 de pulga.
 - b) Larvas 2 de pulga.
 - c) Larvas 3 de pulga.
 - d) Larvas 1 de pulga. para su revisión en su fase adulta.
 - e) Larvas 2 de pulga, para su revisión en su fase adulta.
 - f) Larvas 3 de pulga, para su revisión en su fase adulta.
- Se tomó un grupo control, en cuya alimentación únicamente se proporcionó sangre libre de inóculo. Este grupo se utilizó con la finalidad de llevar a cabo una comparación de tamaños en relación a las pulgas que si fueron infestadas con *T. canis*, lo cual nos indicó que el nematodo influye en el crecimiento de las pulgas.

C. Evaluación de la presencia o no de las larvas de *T. canis* en larvas y adultos de pulga.

La comprobación en cada una de las fases larvarias (300 L1, 300 L2 y 300 L3), 56 pupas y 300 pulgas infestadas en fase L2 y 300 pulgas infestadas en fase L3. Ya sea por sacrificio o muerte natural (no más de 24 horas), se realizó la digestión de larvas o pulgas adultas con la finalidad de recuperar los estados larvarios del nematodo, según fuera el caso, de la siguiente manera:

- Se elaboró jugo gástrico artificial usando 3 ml. de HCl concentrado y 6 gramos de pepsina en un litro de agua destilada.
- Se colocó una larva de pulga cortándola longitudinalmente dentro de un tubo de ensayo y se agregó el jugo gástrico artificial, aproximadamente 3 ml.
- Se dejó reposar 24 horas a temperatura ambiente.
- Una vez transcurrido el tiempo de reposo se realizó el centrifugado con el fin de concentrar las larvas migrantes posiblemente presentes en la suspensión.
- El sedimento fue observado en un portaobjetos y con el uso del microscopio óptico se realizó la búsqueda de las larvas de *T. canis*.
- Este mismo procedimiento se siguió para el análisis de pupas.

- En el caso de las pulgas adultas todos los individuos de cada grupo fueron medidos y observados directamente al microscopio, con el fin de buscar alguna alteración física causada por *T. canis* durante su desarrollo.
- Para la digestión de estos individuos hubo la necesidad del rompimiento de exoesqueleto para permitir una digestión adecuada, a partir de este momento se utilizó el mismo método utilizados en larvas para la detección de *T. canis*.
- Finalmente se determinó el número de larvas, pupas y adultas infestadas y no infestadas, así como la cantidad de larvas *T. canis* encontradas.

5. RESULTADOS

5.1. Inducción de la parasitosis en la pulga.

En la tabla 5 se muestran las cantidades de huevos larvados de *T. canis* obtenidos en los diferentes cultivos que se utilizaron para inocular a los distintos grupos de pulgas en experimentación

Cantidad de huevos de <i>T. canis</i> suministrados en las diferentes fases evolutivas de la pulga a infestar.		
Cultivo de huevos de <i>T. canis</i> empleados	Cantidad de Huevos/ml sangre por inóculo	Motilidad de larvas de <i>T. canis</i> en los huevos utilizados (*)
1	276 H/ 1.5ml	media
2	276 H/ 1 ml	media
3	276 H/ 1ml	baja
4	354 H / ml	media
5	400 H / ml	media
6	400 H / ml	alta
7	400 H / ml	media
8	450 H / ml	media
9	900 H / ml	media
10	1350 H / ml	alta
11	800 H/ ml	alta
12	1300 H/ ml	media
13	1000 H/ ml	alta
14	10000 H/ ml	media

Tabla 5.

(*) Se considera la motilidad como indicador de viabilidad de las larvas de *T. canis* dentro del huevo y se toma como baja a un rango de huevos larvados con larvas en movimiento menor al 40%, media del 40-60% y alta > a 60%

Los primeros 4 inóculos sirvieron para hacer las pruebas preliminares en la inducción de la infestación de los insectos. Determinándose que a partir de 276 huevos/ml de sangre se lograba la implantación de larvas y el valor más alto utilizado fue de 10000. La motilidad en estas fases infectantes fue un factor indicador de la vitalidad de la fase larvaria y su potencial para eclosionar y migrar en el cuerpo del hospedero paraténico.

5.2. Resultados de las digestiones realizadas.

5.2.1. Resultados de la inoculación de larvas uno de pulga.

Se expusieron 200 larvas 1 a 276 huevos/1.5ml de sangre en polvo, las cuales fueron sometidas posteriormente a digestión artificial encontrando que todas fueron negativas a la observación al microscopio. De estas observaciones se desprende que las larvas 1 no ingirieron huevos de *T. canis*, por lo tanto no fue posible encontrarlas.

5.2.2. Resultados de la inoculación de larvas dos de pulga.

Al inicio de nuestra experimentación se obtuvieron cultivos de larvas de pulga que se expusieron a sangre desecada con una concentración de 276 huevos/ml de sangre y se observó una reducida tasa de implantación, asociada a una elevada mortalidad de larvas que no necesariamente se relacionaba con la infección por el nematodo. Por esto se optó por utilizar mayores concentraciones de huevos larvados para valorar los posibles efectos del parasitismo.

Cuatro lotes de 300, 300, 400 y 500 larvas 2 cada uno, sumando un total de 1500 individuos fueron inoculados con 400, 400, 400 y 450 huevos/ml de sangre respectivamente. Los valores obtenidos de supervivencia variaron del 1 al 43% dando un porcentaje promedio del 17.7%, mientras que aquellas larvas 2 que no fueron expuestas al inóculo alcanzaron un 44% de supervivencia (Tabla. 11).

Resultados obtenidos de 1500 larvas 2 de pulga inoculados con <i>T. canis</i>										
	Inóculo 5		Inóculo 6		Inóculo 7		Inóculo 8		Total de individuos	
Huevos larvados/ml de sangre	400 Huevos larvados/ml de sangre		400 Huevos larvados/ml de sangre		400 Huevos larvados/ml de sangre		450 Huevos larvados/ml de sangre			
Larvas 2 de pulga inoculadas con <i>T. canis</i>	300		300		400		500		1500	
Total de larvas analizadas	210		175		349		327		1061	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Larvas 2 de pulga Vivas recuperadas por inóculo	11	3.66	3	1	172	43	114	23	300	17.7
Larvas 2 de pulga muertas recuperadas por inóculo	199	66.3	172	57.3	177	44.3	213	42.6	761	52.6
Larvas 2 de pulga desaparecidas	90	30	125	41.6	51	12.8	173	34.6	439	29.8
Total de larvas 2 de pulga muertas entre recuperadas y desaparecidas	289	96.3	297	99	228	57.1	386	77.2	1200	82.4

Tabla 6.

Las larvas infestadas con el inóculo 6 de alta motilidad presentaron un 81.14% mayor de infestación por larvas de *T. canis* que aquellas inoculadas con el 5, 7 y 8 de motilidad media que tuvieron porcentajes del 66.66%, 29.23 y 49.54% respectivamente.

De los 4 lotes de larvas 2 de pulga infestadas con *T. canis* se recuperaron en total 1061 organismos vivos o muertos para su análisis, de estas el 56.75% fue positivo, el porcentaje de mortalidad total entre positivas y negativas fue del 82.4% y de este, *T. canis* causó el 70% de las muertes siendo el 30% por otras causas, sobreviviendo únicamente el 17.7% del grupo original, es decir, que de las 1500 larvas de pulga infestadas solo un 0.86% de larvas vivas fue positivo a la infestación con *T. canis*

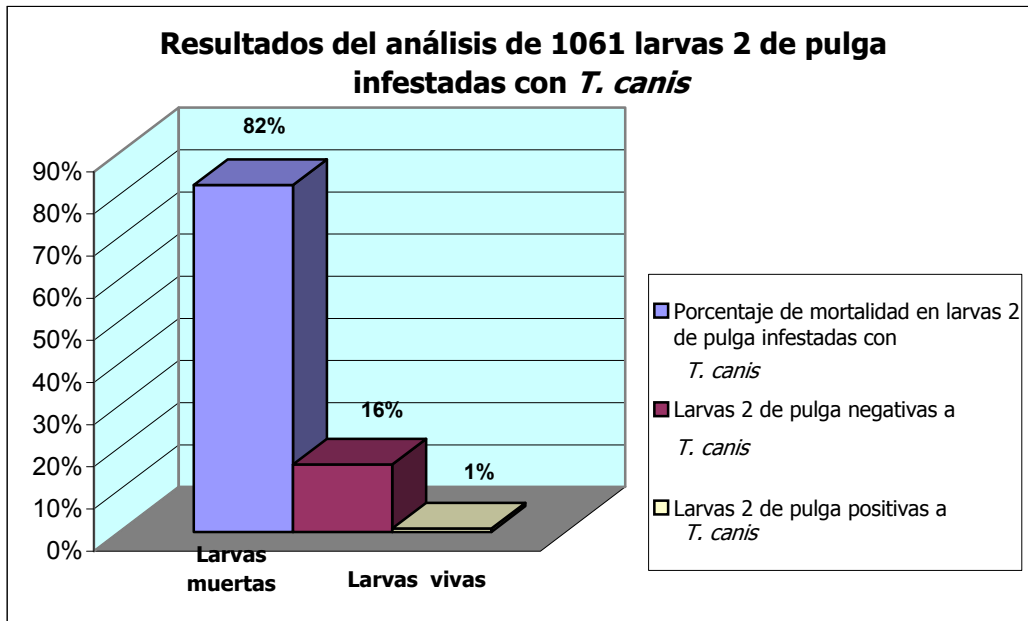
El rango de larvas 2 de pulga positivas a *T. canis*, varió del 29.23% al 81.14% siendo su porcentaje promedio del 56.75%, de estas, el rango de larvas de pulga positivas muertas varió del 56 al 82%, dando un porcentaje promedio del 70%, en tanto que el rango de larvas 2 positivas vivas tuvo un rango del 1.74% al 33.33% con un porcentaje promedio del 4.33%.

No se detectó ningún tipo de alteración morfológica en los organismos estudiados.

Resultados de las digestiones realizadas a 1061 larvas 2 de pulga recuperadas después de exponerlas a varios inóculos de larvas de <i>T. canis</i>.										
	Inóculo 5		Inóculo 6		Inóculo 7		Inóculo 8			
	400 Huevos larvados/ml de sangre		400 Huevos larvados/ml de sangre		400 Huevos larvados/ml de sangre		450 Huevos larvados/ml de sangre			
Larvas 2 de pulga infestadas con <i>T. canis</i>	No	%	No	%	No	%	No	%	No. Total de individuos	% Promedio de individuos
Larvas 2 positivas a <i>T. canis</i> entre vivas y muertas	140	66.66	142	81.14	102	29.23	162	49.54	546	56.75
Larvas muertas a causa de <i>T. canis</i>	137	69	141	82	99	56%	156	73	533	70
Larvas 2 muertas negativas a <i>T. canis</i>	62	31	31	18.	78	44	57	27	228	30
Larvas vivas positivas a <i>T. canis</i>	3	27.3	1	33.33	3	1.74	6	5.26	13	4.33
Larvas 2 vivas negativas a <i>T. canis</i>.	8	72.7	2	66.66	169	98.26	108	94.74	287	95.67
Larvas positivas vivas en relación al total de larvas inoculadas	3	1	1	0.33	3	0.75	6	1.2	13	0.86

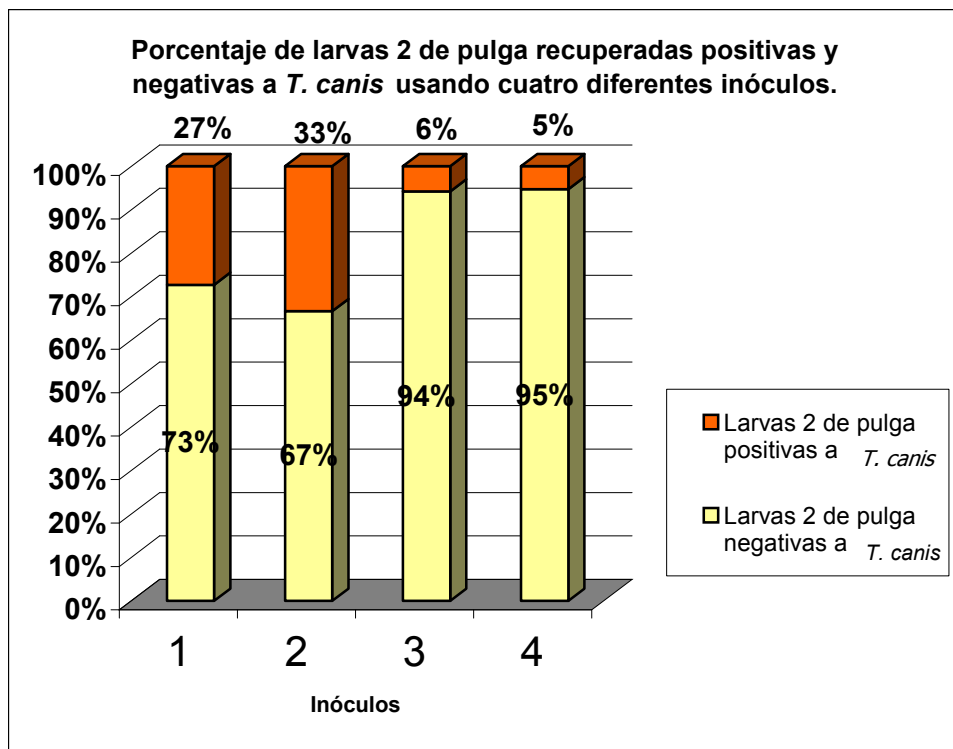
Tabla 7.

En la gráfica 1 se muestra la distribución de larvas 2 de pulga inoculadas y recuperadas vivas en el que 2% resultaron negativas, 1% resultaron positivas a la presencia de larvas de *T. canis* y el 97% restante se refiere a la mortalidad, entre larvas positivas y negativas a *T. canis*



Gráfica 1

La gráfica 2 muestra la distribución del 17.7% de larvas 2 de pulga vivas en sus 4 inóculos, donde los rangos de pulgas negativas a *T. canis* son mayores, del 95 al 67%, con respecto a las positivas, cuyos rangos varían del 33 al 5%.



Gráfica 2

5.2.3. Resultados de la inoculación de larvas tres de pulga.

Cuatro lotes de 300, 500, 600 y 700 larvas 3, sumando un total de 2100 individuos fueron inoculados con 400, 1350, 1000 y 10000 huevos/ml de sangre respectivamente. Los valores obtenidos de supervivencia variaron del 12.4 % (en aquellas inoculadas con 1350 huevos) al 30.14% (inoculados con 10000 huevos) respectivamente, mientras que aquellas larvas 3 que no fueron expuestas al inóculo alcanzaron un 45.75% de supervivencia, este grupo inoculado con 10000 huevos presentó una gran cantidad de huevos larvados que se mantenían en el intestino de las larvas, al parecer no pudieron eclosionar larvas por su condición debilitada o bien no encontraron las condiciones adecuadas para lograrlo, este cultivo presentaba motilidad media (Tabla 8).

Resultados obtenidos de larvas 3 de pulga inoculadas con <i>T. canis</i>										
Larvas 3 de pulga infestadas con <i>T. canis</i>	Inóculo 6		Inóculo 10		Inóculo 13		Inóculo 14		Total de individuos	
	400 Huevos larvados/ml de sangre		1350 Huevos larvados/ml de sangre		1000 Huevos larvados/ml de sangre		10000 Huevos larvados/ml de sangre			
Larvas 3 de pulga inoculadas con <i>T. canis</i>	300		500		600		700		2100	
Larvas 3 de pulga recuperadas vivas y muertas analizadas	122		265		402		617		1406	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Larvas 3 de pulga vivas recuperadas por inóculo	47	15.66	62	12.4	98	16.33	211	30.14	418	18.63
Larvas 3 de pulga muertas recuperadas por inóculo	75	25	203	40.6	304	50.66	406	58	988	43.53
Larvas 3 de pulga desaparecidas	178	59.33	235	47	198	33	83	11.86	694	38
Total de larvas 2 de pulga muertas entre recuperadas y desaparecidas	253	84.33	438	87.6	502	83.66	489	69.86	1770	81.36

Tabla 8.

Las larvas infestadas con los inóculos 6, 10 y 13 con alta motilidad presentaron un 40.16, 50.56 y 50.24% de infestación y con el inóculo 14 con motilidad media fue del 42.46%.

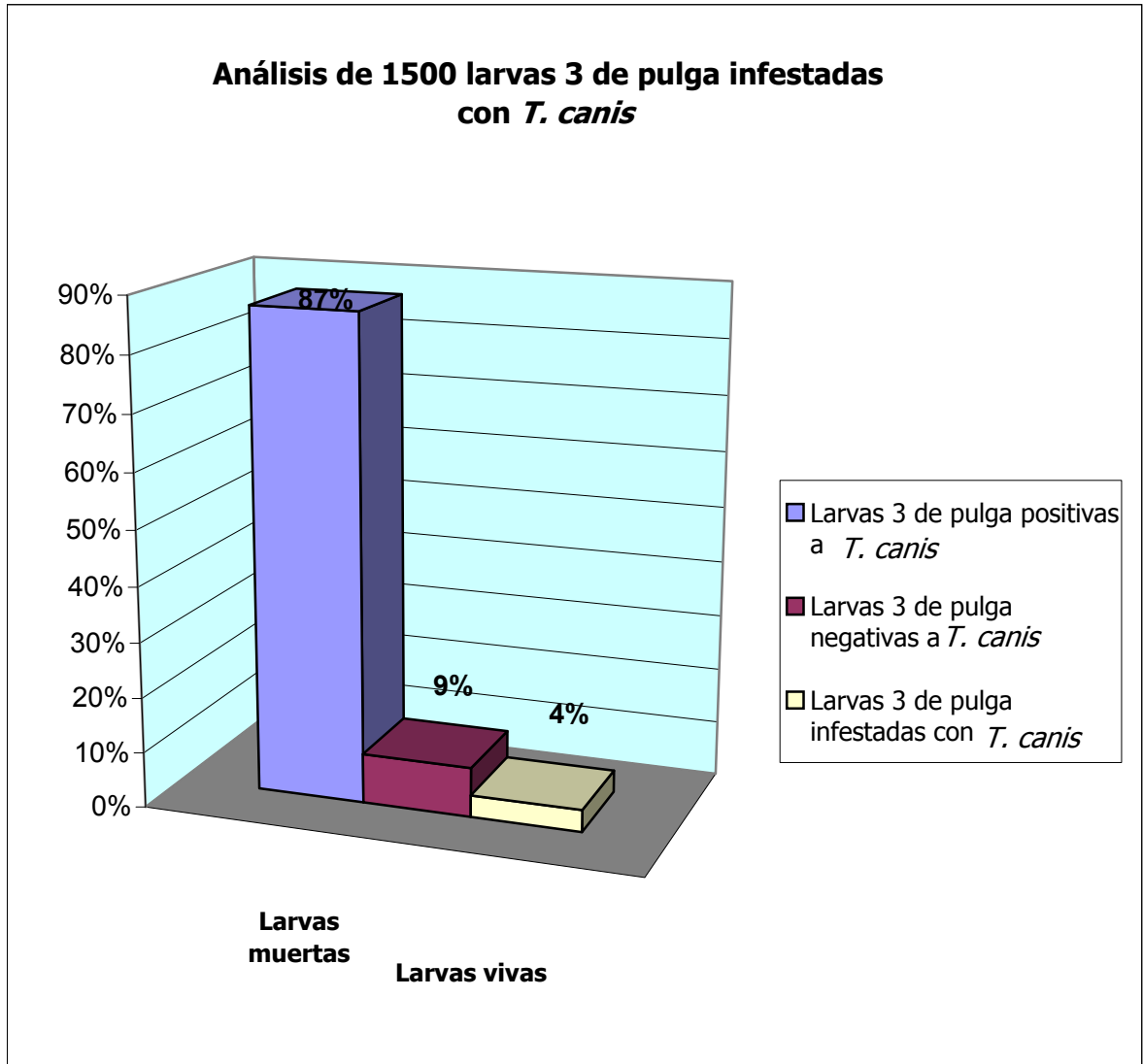
De los 4 lotes de larvas 3 de pulga infestadas con *T. canis* se recuperaron en total 1406 organismos vivos o muertos para su análisis, de estas el 45.85% fue positivo, el porcentaje de mortalidad total entre positivas y negativas fue del 81.36% y de esta, *T. canis* causó el 52.75% de la mortalidad siendo el 47.25% por otras causas diferentes, sobreviviendo únicamente el 18.63% del grupo original, es decir, que de las 2100 larvas de pulga infestadas solo un 5.71% de larvas vivas fue positivo a la infección con *T. canis* (Gráfico No.3). Las larvas 3 de pulga usadas como control, presentaron una tasa de supervivencia del 45.75%, que es mayor en comparación con el grupo de larvas 3 inoculadas que fue del 23.48%.

El rango de larvas 3 de pulga positivas a *T. canis*, varió del 40.16% al 50.56% siendo su porcentaje promedio del 45.85%, de estas, el rango de larvas de pulga positivas muertas varió del 48 al 59%, dando un porcentaje promedio del 52.75%, en tanto que el rango de larvas 3 positivas vivas tuvo un rango del 4.76% al 33.33% con un porcentaje promedio del 20.68%.

Resultado numérico y porcentual de larvas 3 de pulga infestadas con larvas de <i>T. canis</i> y recuperadas inoculando diferentes cantidades de larvas.										
	Inóculo 6		Inóculo 10		Inóculo 13		Inóculo 14		Promedio	
	400 Huevos larvados/ml de sangre		1350 Huevos larvados/ml de sangre		1000 Huevos larvados/ml de sangre		10000 Huevos larvados/ml de sangre			
	No	%	No	%	No	%	No	%	No. Total de individuos	% Promedio de individuos
Larvas 3 vivas y muertas positivas a <i>T. canis</i>	49	40.16	134	50.56	202	50.24	262	42.46	647	45.85
Larvas 3 muertas positivas a <i>T. canis</i>	37	49	120	59	167	55	195	48	556	52.75
Larvas 3 muertas negativas a <i>T. canis</i>	38	51	83	41	137	45	211	52	520	41.25
Larvas 3 vivas positivas a <i>T. canis</i>	18	37.97	11	18	33	33.33	64	30.36	91	29.91
Larvas 3 vivas negativas a <i>T. canis</i>	29	61.7	51	82.25	65	66.33	147	69.66	239	69.98
Larvas positivas en relación al total de larvas inoculadas	6		2.2		5.5		9.14		5.71%	

Tabla 9.

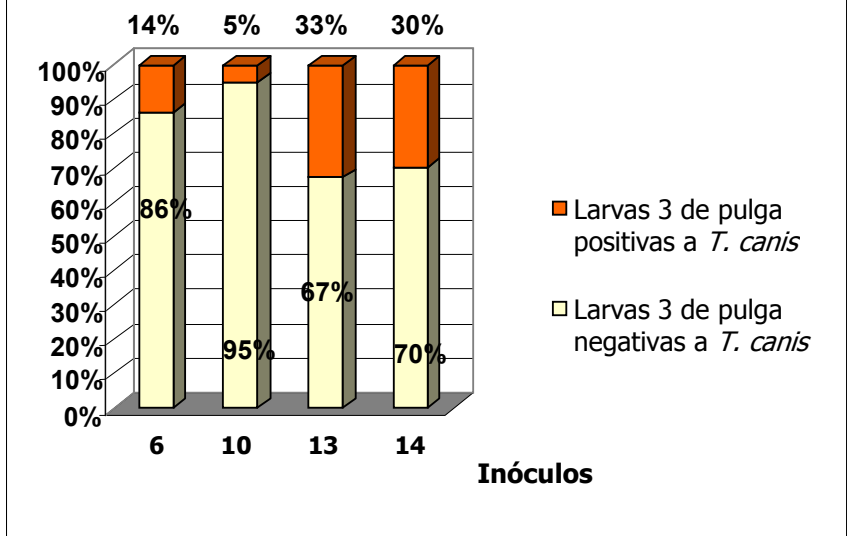
En la gráfica 3 se muestra la distribución de larvas 3 de pulga inoculadas y recuperadas vivas en el que 9% resultaron negativas y 4% resultaron positivas a la presencia de larvas de *T. canis* y el 87% restante se refiere a la mortalidad, entre larvas positivas y negativas a *T. canis*



Gráfica 3

La gráfica 4 se muestra a la distribución del 18.63% de larvas 3 de pulga vivas en sus 4 inóculos, donde los rangos de larvas negativas a *T. canis* son mayores, del 95% al 67%, con respecto a las positivas, cuyos rangos varían del 33 al 5%.

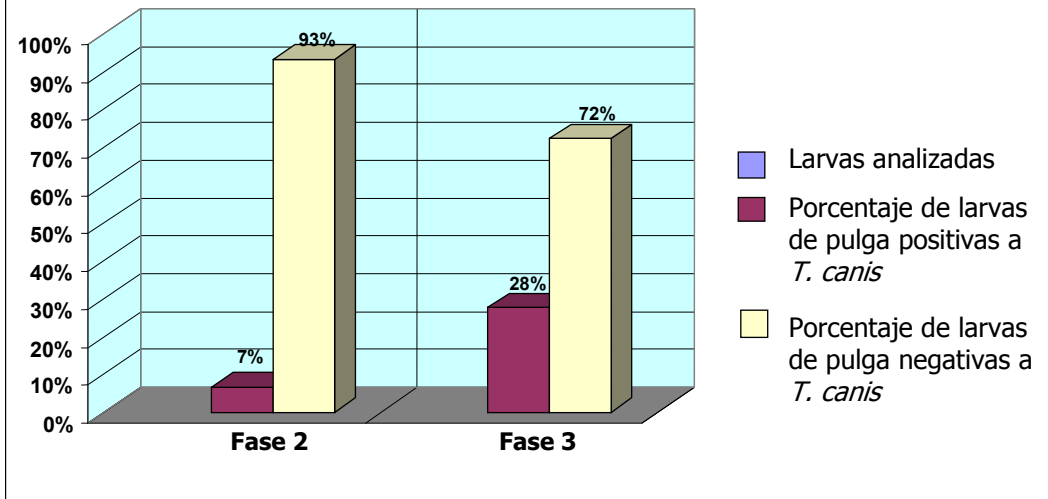
Porcentaje de larvas 3 de pulga positivas y negativas a *T. canis* correspondientes a los cuatro diferentes inóculos utilizados



Gráfica 4

Al realizar una comparación general entre los dos estadios larvarios, encontramos que en las larvas 2 de pulga infestadas el 7% corresponde a la cantidad de larvas positivas y el 93% a las larvas negativas a *T. canis*, para el caso de de las larvas 3 infestadas se encontró que el 28% de positivas y el 72% de larvas negativas (Gráfica 5)

Comparación porcentual en larvas 2 y 3 de pulga recuperadas vivas infestadas con *T. canis*



Gráfica 5

5.2.4. Grupo control de las larvas 2 y 3 comparadas con los grupos infestados con *T. canis* en las mismas fases.

En el grupo control encontramos:

Registro de sobrevivencia de las larvas de pulga control en las fases larvarias 2 y 3										
Variantes	Grupos control de larvas 2				Total	Grupos control de larvas 3				Totales
Número de larvas de pulga	300	400	500	600	1800	400	500	600	700	2200
Número total de larvas sobrevivientes	129	152	235	288	804	172	114	324	425	1035
Porcentaje de sobrevivencia	43%	38%	47%	48%	44%	43%	23%	56%	61%	45.75%

Tabla 10.

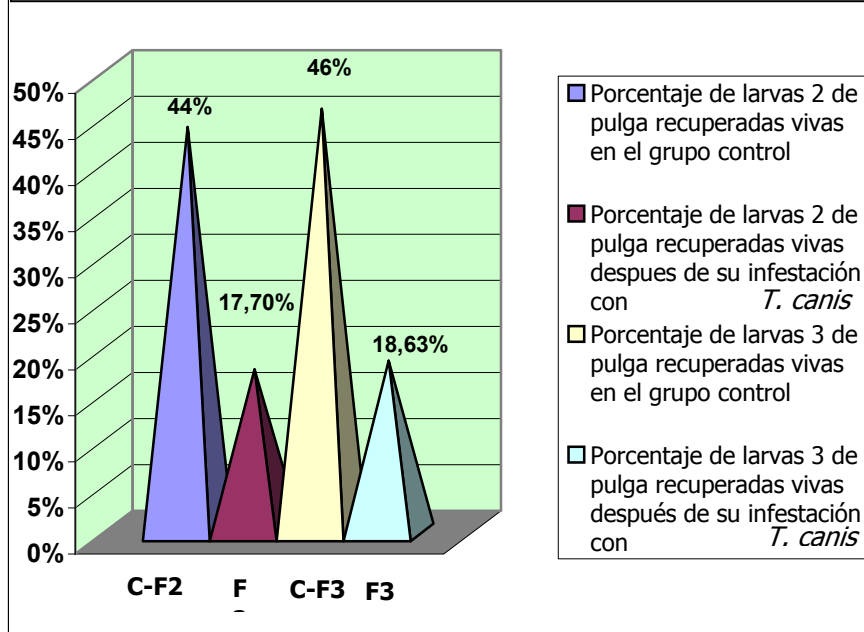
El porcentaje de supervivencia en los grupos control de larvas 2 fue del 44%, siendo la supervivencia de las infestadas con *T. canis* de tan solo el 3%. El porcentaje de supervivencia de las larvas 3 control fue del 46%, mientras que las mismas larvas inoculadas mostraron un porcentaje de supervivencia del 13%.

Comparación de los resultados obtenidos entre los grupos de larvas 2 y 3 control y los grupos infestados con <i>T. canis</i> en las mismas fases.								
Larvas de pulga	Larvas 2 de pulga control		Larvas 2 de pulga infestadas con <i>T. canis</i>		Larvas 3 de pulga control		Larvas 3 de pulga infestadas con <i>T. canis</i>	
Larvas analizadas por grupo	1800		1500		2200		2100	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Larvas recuperadas por grupo	804	44%	300	2.97%	1035	46%	330	13.25%
Larvas recuperadas positivas a <i>T. canis</i> por grupo	0%		13	4.33%	0%		91	20.68%
Larvas muertas a causa de <i>T. canis</i>	0%		533	70%	0%		556	43%

Tabla 11.

Al realizar la comparación entre los porcentajes de larvas de pulga control 2 y 3 y las larvas de pulga infestadas con *T. canis* en las mismas fases, se encontró que las larvas 2 control presentaban una supervivencia menor (44%) que las larvas 3 control (46%) y que las larvas 2 infestadas con *T. canis* tuvieron una menor supervivencia (2.97%) que las larvas 3 infestadas (13.25%), es decir, que las larvas 2 de pulga presentaban un menor índice de supervivencia en relación a las larvas 3 de pulga, independientemente de que estas estuvieran infestadas o no.

Comparación de porcentajes de recuperación entre larvas 2 y 3 de pulga control larvas de pulga infestadas con *T. canis* las mismas fases.



Donde: C-F2 = Grupo control de larvas 2 de pulga.
 F2 = Grupo de larvas 2 de pulga infestadas con *T. canis* recuperadas vivas.
 C-F3 = Grupo control de larvas 3 de pulga.
 F3 = Grupo de larvas 3 de pulga infestadas con *T. canis* recuperadas vivas.

Gráfica 6.

5.2.5. Fase pupal.

La obtención de pupas se realizó de los grupos inoculados en las diferentes fases, obteniendo pupas fallidas o aparentemente muertas sin perturbar la pupación de las aún vivas, obteniendo solo 56 de estas fases, las cuales se sometieron a digestión en donde se encontró cuatro de estas fases infectadas que corresponden al 7% de las obtenidas, los resultados se presentan en la tabla No. 13:

Análisis de resultados de pupas de pulga infestadas con <i>T. canis</i>.			
Pupas.	Total de pupas analizadas	Pupas positivas a <i>T. canis</i>	Pupas negativas a <i>T. canis</i>
Número Total	56	4	52
Número Porcentaje	100%	7%	93%

Tabla 12.

5.2.6. Pulgas adultas expuestas a *T. canis* en fase de larva 2.

Cuatro lotes de 500, 600, 400 y 700 pulgas adultas expuestas a *T. canis* en la fase de larva 2, sumando un total de 2200 individuos fueron inoculados con 1350, 1300, 900 y 10000 huevos/ml de sangre respectivamente. Los valores obtenidos de supervivencia variaron del 7.75 al 24% respectivamente (Tabla 13).

Resultados obtenidos de la digestión de pulgas adultas inoculadas en la fase de larvas 2 con huevos larvados de <i>T. canis</i>.					
Pulgas adultas infestadas con <i>T. canis</i> en fase de larva 2	Inóculo 10	Inóculo 12	Inóculo 9	Inóculo 14	Total
	1350 Huevos larvados/ml de sangre	1300 Huevos larvados/ml de sangre	900 Huevos larvados/ml de sangre	10000 Huevos larvados/ml de sangre	
Número total de pulgas adultas expuestas	500	600	400	700	2200
Numero de organismos que no continuaron su desarrollo.	380	550	369	601	1900
Número total de pulgas vivas recuperadas y analizadas	120	50	31	99	300
Porcentaje de sobrevivencia de pulgas adultas	24%	8.33%	7.75%	14%	13.52%

Tabla 13.

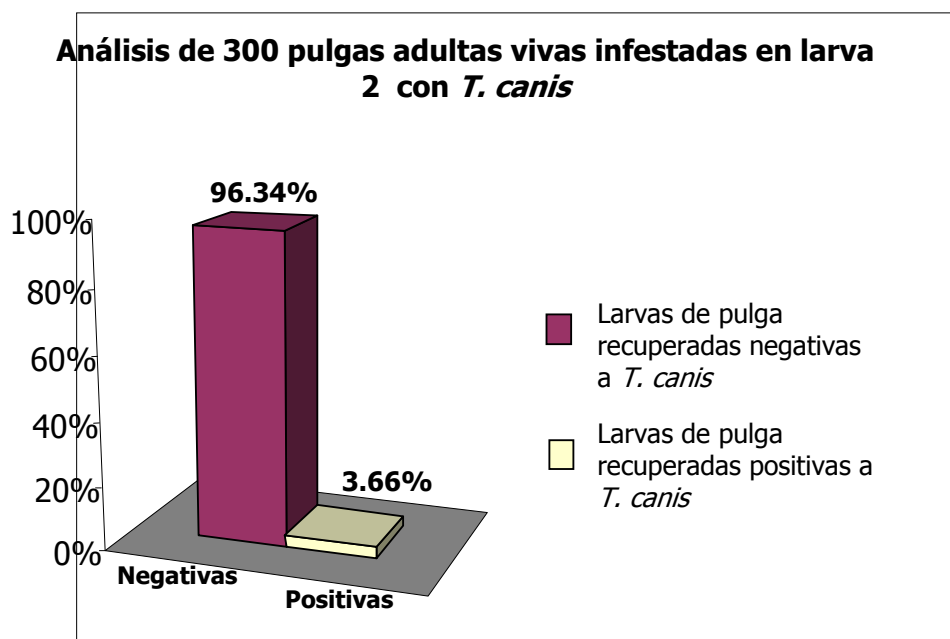
Se utilizaron los inóculos 10, 12, 9 y 14 de motilidad media y presentando un rango de infestación que vario del 2 al 6.45%.

Considerando que de los cuatro lotes de larvas 2 de pulga infestados con *T. canis* se presento una mortalidad del 97.76%, se recuperaron en total 300 organismos vivos para su análisis, de estas el 3.24% fue positivo, el porcentaje de mortalidad total fue del 96.76%, sobreviviendo únicamente el 3.24% del grupo original, es decir, que de las 2200 larvas infestadas solo un 0.39% de las vivas fue positivo a la infestación con *T. canis*, el rango de positivas a *T. canis* varió del 2% al 6.45% siendo su porcentaje promedio del 3.24%. Ninguna de las larvas de *T. canis* encontradas estaba viva, encontrándose en estado de vacuolización

Análisis numérico y porcentual de pulgas adultas expuestas a <i>T. canis</i> durante su fase 2										
	Inóculo 10		Inóculo 12		Inóculo 9		Inóculo 14			
	1350 Huevos larvados/ml de sangre		1300 Huevos larvados/ml de sangre		900 Huevos larvados/ml de sangre		10000 Huevos larvados/ml de sangre			
Pulgas adultas infestadas con <i>T. canis</i> en fase de larva 2	No	%	No	%	No	%	No	%	No. total	% Promedio
Pulgas adultas recuperadas positivas a <i>T. canis</i>	3	4.16	1	2	2	6.45	2	2.02	8	3.66
Pulgas adultas positivas en relación al total de larvas inoculadas	3	0.6	1	0.16	2	0.5	2	0.28	8	0.39
Pulgas adultas positivas con deformidades	2	4	1	2	0	0	0	0	3	1.5

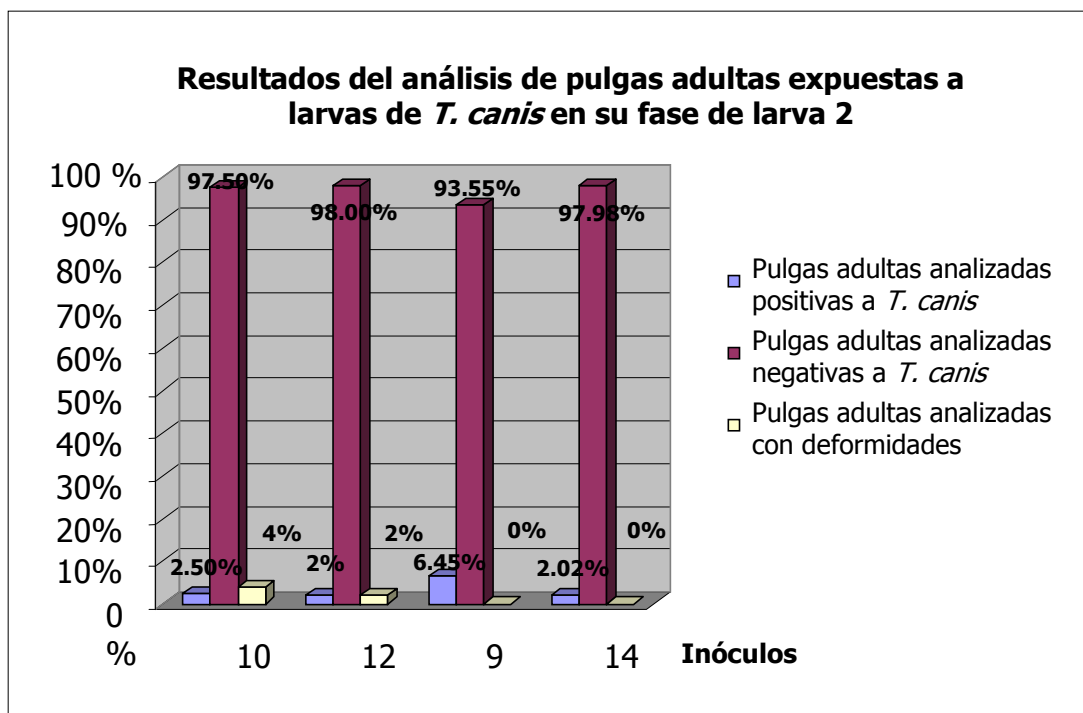
Tabla 14.

En la gráfica 7 se muestra la distribución de pulgas adultas vivas infestadas con *T. canis* en la fase de larva 2, en el que 96.34% resultaron negativas y el 3.66% positivas.



Gráfica 7

De lo que se desprende la siguiente gráfica:



Gráfica 8

Se observa que el porcentaje de pulgas positivas a *T. canis* recuperadas es reducido, variando del 2% al 6.45%, además se observó que la mayoría de las pulgas con deformidades encontradas correspondían a pulgas positivas con un rango del 2% al 4% de organismos deformes en el grupo analizado, las pulgas negativas a *T. canis* variaron del 93.55 al 98% que además no presentaban deformidades.

5.2.7. Pulgas adultas expuestas a *T. canis* en su fase de larva 3.

Cuatro lotes de 400, 300, 600 y 700 de pulgas adultas cada uno fueron expuestas a larvas de *T. canis* en fase de larva 3, sumando un total de 2000 individuos fueron inoculadas con 400, 400, 1000 y 10000 huevos/ml de sangre respectivamente. Los valores obtenidos de supervivencia variaron del 9.25 al 11.14% respectivamente (Tabla 13).

Resultados obtenidos de la digestión de pulgas adultas inoculadas en la fase de larvas 3 con huevos larvados de <i>T. canis</i>.					
	Inóculo 7	Inóculo 6	Inóculo 13	Inóculo 14	Total Pulgas adultas
Pulgas adultas infestadas con <i>T. canis</i> en fase de larva 3	400 Huevos larvados/ml de sangre	400 Huevos larvados/ml de sangre	1000 Huevos larvados/ml de sangre	10000 Huevos larvados/ml de sangre	
Número total de pulgas adultas	400	300	600	700	2000
Número total de pulgas adultas analizadas	37	120	65	78	300
Pulgas adultas desaparecidas	363	180	535	622	1700
Porcentaje de supervivencia al inóculo en pulgas adultas	9.25%	40%	10.83%	11.14%	17.81%

Tabla 15.

Las larvas infestadas con los inóculos 7 y 14 con baja motilidad presentaron un 8.10 y 15% de infestación y en las inoculadas con el 6 y el 13 con motilidad alta fue del 6 y 23%.

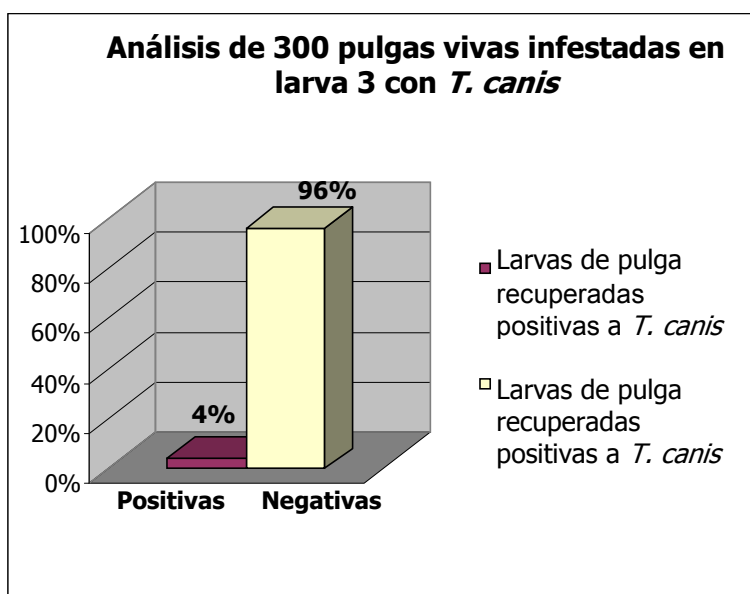
De los 4 lotes de larvas 3 de pulga infestadas con *T. canis* para revisión en adultas se recuperaron en total 300 organismos vivos para su análisis, el porcentaje de mortalidad fue del 85.25%, el 2.24% fue positivo a la presencia de larvas, la infestación por *T. canis* causó el 52.75% de la mortalidad siendo el 47.25% por otras causas diferentes, sobreviviendo únicamente el 17.81% del grupo original, es decir, que de las 2000 larvas de pulga infestadas solo un 2.24% alcanzó a evolucionar a la fase adulta con la infestación (Gráfica 3).

El rango de larvas 3 de pulga positivas, varió del 8.10% al 23% siendo su porcentaje promedio del 14.03% (Tabla 16). Ninguna de las larvas de *T. canis* encontradas estaba viva, encontrándose en estado de vacuolización

Análisis numérico y porcentual de pulgas adultas expuestas a <i>T. canis</i> durante su fase 3										
	Inóculo 7		Inóculo 6		Inóculo 13		Inóculo 14		Total	
	400 Huevos larvados/ ml de sangre		400 Huevos larvados/ ml de sangre		1000 Huevos larvados/ml de sangre		10000 Huevos larvados/ml de sangre			
Pulgas adultas infestadas con <i>T. canis</i> en fase de larva 3	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No. Total de adultas	% Promedio de adultas
Pulgas adultas analizadas positivas a <i>T. canis</i>	3	8.10	12	10	15	23	12	15	42	14.03
Pulgas adultas positivas en relación al total de larvas inoculadas	3	0.75	12	4	15	2.5	12	1.7	42	2.24
Pulgas adultas positivas con deformidades	1	3	7	6	12	18	5	6	25	8.25

Tabla 16.

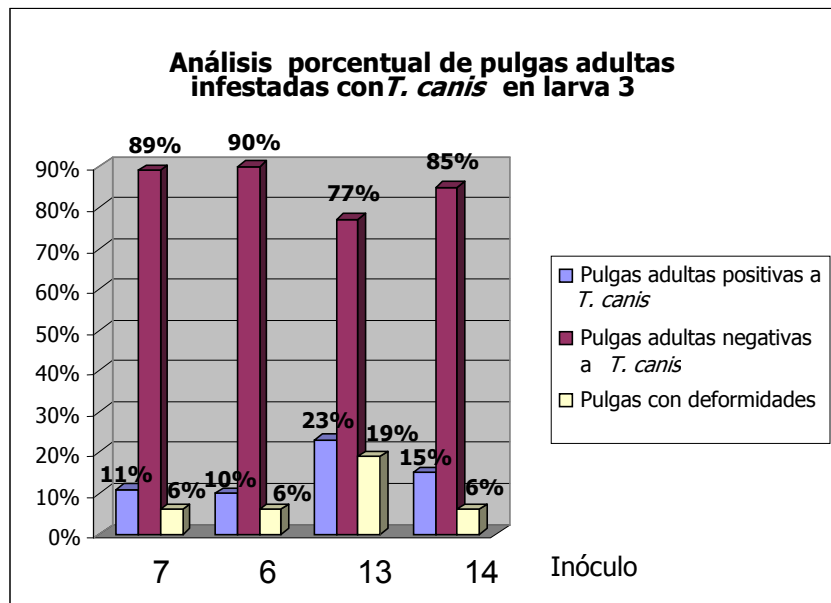
En la gráfica 9 se muestra la distribución de pulgas adultas vivas infestadas con *T. canis* en la fase de larva 3, resultando que el 96% son negativas y el 4% positivas a la presencia de larvas.



Gráfica 9

De estos resultados se desprende lo siguiente gráfica:

Se observa que el número de pulgas positivas a *T. canis* es pequeño, variando del 2% al 6.45%, sin embargo también encontramos que la mayoría de las pulgas con deformidades encontradas correspondían a las pulgas positivas, en un rango del 2% al 4% deformes en el grupo analizado, las pulgas negativas a *T. canis* variaron del 93.55 al 98%

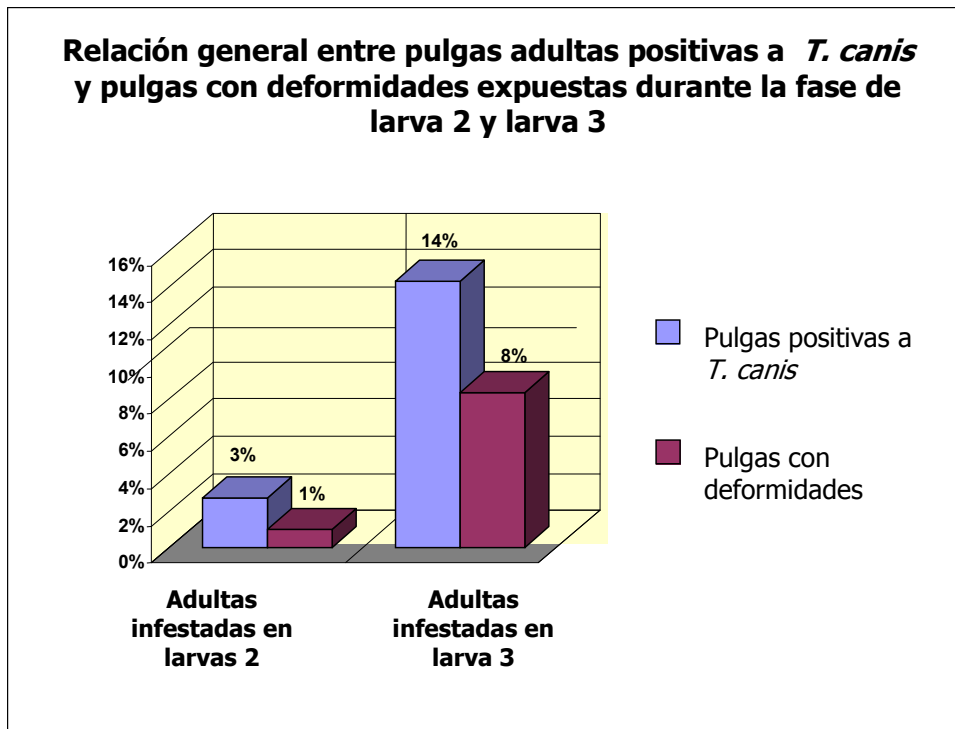


Gráfica 10

En este grupo, encontramos un mayor número de pulgas positivas a *T. canis*, además de un mayor número de pulgas deformes, presentando una correlación positiva entre ambas.

5.2.8. Comparación entre dos diferentes grupos de adultos.

Haciendo una comparación entre los dos grupos de pulga, para determinar la relación entre positivas y deformes, se obtuvo que aquellas adultas infestadas en fase de larva 2 presentaban un porcentaje menor de positivas (3%) que las infestadas en fase 3 (14%). Las deformidades se presentan con menor frecuencia en las infestadas en fase 2 (1%) que las infestadas en fase 3 (8%).

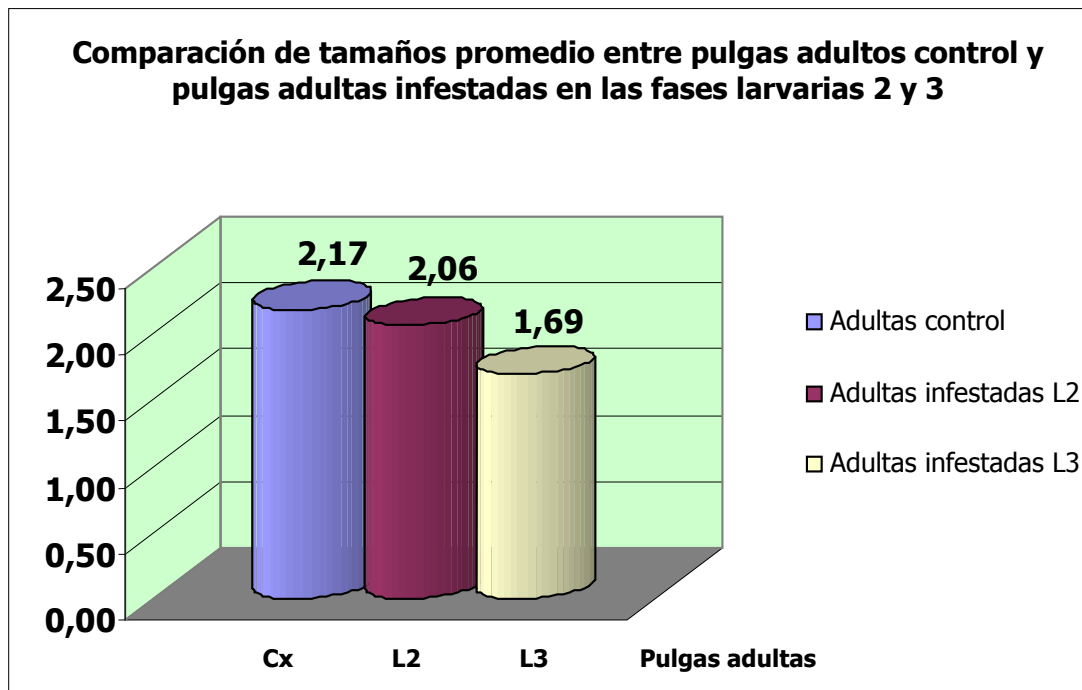


Gráfica 11

Aquí se encontró un mayor número de positivas (14%) y larvas deformes (8%) en el grupo de pulgas adultas infestadas en la fase de larva 3, en comparación con las pulgas adultas infestadas en la fase de larva 2, donde el número de larvas positivas fue del 3% y las larvas con deformidades del 1%

5.2.9. Comparación de tamaños entre los grupos de adultas.

En el grupo control obtenido, no se encontraron pulgas positivas a *T. canis* o con presencia de deformidades por causas naturales, sin embargo, si se encontró una diferencia de tamaño en relación a aquellos inoculados con *T. canis*, el promedio de tamaño en las pulgas control fue de 2.17 mm, en las pulgas infestadas en fase 2 de 2.06 mm y en las infestadas en fase 3 de 1.69 mm, a los valores de medición de las pulgas obtenidas se les realizó un análisis de varianza para determinar si la infestación por las larvas influye en las dimensiones de los insectos, obteniéndose un valor para F de 319,182337 contra un valor de F de tablas de 199,5 (Tablas 18, 19 y 20 Anexos).



Gráfica 12

El resultado muestra que las pulgas control, al no haber tenido contacto con el parásito *T. canis*, tiene un mayor tamaño en relación a los otros dos grupos. El grupo de adultas infestadas en su etapa larvaria dos quien registró un menor número de positivas a *T. canis* también demuestra un mayor tamaño promedio que aquellas infestadas en adultas infestadas en larva tres de pulga.

6. DISCUSIÓN.

Este trabajo es el primero de esta naturaleza, en él, se planteó como objetivo establecer un modelo biológico para probar el posible papel de la pulga *Ctenocephalides felis felis*, como hospedador paraténico de *Toxocara canis*, reproduciendo el ciclo biológico de estos artrópodos a nivel laboratorio, para posteriormente exponerlos a la infestación por las fases larvianas del nematodo. Al ser este trabajo pionero, no existen otros comparativos, por lo que en este se abarcan todos los factores que pudieron influir en el resultado de esta investigación.

6.1. INÓCULO.

El primer aspecto a estandarizar fue el cultivo de larvas de *Toxocara canis* este procedimiento fue descrito desde 1976 por De Savigny y se maneja rutinariamente en el laboratorio de Parasitología, en este trabajo el reto fue desarrollar cultivos de huevos larvados con un elevado porcentaje de viabilidad y, dada la falta de experiencia inicial se presentaron confusiones respecto a la zona que debía ser disecada para la obtención de estos, ya que al principio, al realizar la punción de las hembras, se producía la salida de otras estructuras carentes de utilidad o porciones uterinas en las que se encontraban huevos aún no fecundados, lo cual generaba contaminación con estos y la obtención de una mayor proporción de huevos no larvados. También representó en un momento dado, una dificultad, obtener los gusanos adultos, limitando la obtención de cultivos y en consecuencia a posibilidad de usar inóculos frescos y con buena viabilidad, requiriendo de usar inóculos que se habían mantenido por periodos prolongados que continuamente eran sometidos a evaluación para determinar el nivel de viabilidad. Por lo tanto en los primeros ensayos inoculando los primeros grupos de larvas de pulga los resultados no fueron lo más adecuados y esos 4 inóculos sirvieron para hacer las pruebas preliminares en la inducción de la infestación de los insectos, lo que permitió llegar a determinar que la cantidad más adecuada era a partir de 276 huevos/ml de sangre, cantidad con la que se lograba la implantación de larvas.

6.2. CULTIVOS DE PULGAS.

Para la obtención de las diferentes fases evolutivas de pulga, se inicio con la recolección de fases adultas directamente de los perros para que, manteniéndolas en condiciones de laboratorio se pudieran obtener sus huevos en el alojamiento, se trató de alimentarles con sangre desfibrinada en un perro artificial que consta de una caja de plexiglas en la cual se encuentran depósitos de latex con sangre suspendidos sobre las pulgas para facilitar su alimentación, con esto se pretendía disminuir la necesidad de recolección de pulgas para obtención de huevos, ya que las hembras bien alimentadas continuarían poniéndolos, sin embargo, la obtención del material y la forma de mantener la temperatura de la sangre hicieron imposible la realización de este modelo. El procedimiento de recolección directa resultó lento, tedioso y dificultaba la obtención de las cantidades de huevos necesarios para el desarrollo de la investigación, por lo que se optó por la recolección de huevos en las zonas de descanso de animales que habían sido identificados por presentar una importante infestación con estos artrópodos, lo que permitió la obtención de cantidades suficientes de individuos para formar los grupos requeridos, alimentándose con sangre desfibrinada desecada y pulverizada. Los envases adecuados para la crianza, debían mantener el calor y la humedad, permitiendo el manejo bajo el microscopio estereoscópico, se experimentó con frascos de café, que resultaron inadecuados en ambos aspectos; se fabricaron cajas de vidrio de 7 x 15 x 5 cm accesibles al microscopio, que se colocaron dentro de una pecera con un espejo de agua como trampa para evitar el escape de las pulgas adultas, sin embargo, el diseño de distribución de agua al interior de las cajas, que consistía en una manguera de 1/8 de pulgada de diámetro dispuesta en espiral y con perforaciones a todo lo largo, con lo que se pretendía humedecer uniformemente el sustrato contenido presentó problemas porque hubo diferencias en la presión del agua que se inyectaba través de manguera y esto hacía que en algunas áreas el agua se estancara y en otras no se distribuyera adecuadamente reteniendo demasiada humedad, estas variaciones causaron la muerte de las larvas, por esta razón se optó por la utilización de frascos de alimento procesado de Gerber se usaron los de boca ancha que resultaron los recipientes más adecuados. El sustrato más adecuado se determinó de entre diferentes materiales: pedazos de diferentes telas, tapetes, alfombras, hule espuma, arena y tierra, humedeciéndolos y colocando huevos de pulga, que se incubaban durante 3-4 días a temperatura ambiente, la tierra y la

arena resultaron ser los mejores sustratos para la crianza, se determinó el uso de la tierra por la facilidad de obtención, contraste en el color de los huevos y larvas recién nacidos, además del alto porcentaje de supervivencia, la cantidad de sustrato utilizada también causó variantes, una gran cantidad de tierra, permitía que las larvas se enterrarán dificultando su observación y localización, y por otra parte un sustrato muy delgado causaba la desecación de las larvas y exponía a las enfermas o heridas haciéndolas presas del canibalismo. El nivel de humedad en la tierra se determinó mediante el método de ensayo y error, al inicio se humedeció con 6 a 9 ml de agua diarios o cada tercer día, esto parecía favorecer la eclosión de huevos, pero una vez nacidas las larvas el mantenimiento de este nivel de humedad fue una de las principales causas de mortalidad entre estas, que también se relacionaba con el desarrollo de hongos que crecían abundantemente enredándose y asfixiando a las larvas, estos factores adversos fueron eliminados disminuyendo a 2 o 3 ml de agua aplicada una sola vez durante los 3 a 4 días de la incubación inicial de los huevos y de 1.5 a 2 ml de agua por semana durante el desarrollo de las fases larvianas. Para el control de temperatura, en principio se utilizó una estufa bacteriológica, en la que también se incubaban los cultivos de huevos de *T. canis* y se encontró que generaban vapores que resultaban tóxicos (solución formolada al 2.5%) que resultó en detrimento del desarrollo de las larvas, por esta razón se optó por instalar los frascos con los insectos en un recipiente de cristal de 90 X 40 X 40 cm, forrado con tela plastificada que impedía la entrada de luz hacia las larvas y que contenía los frascos de Gerber y la temperatura se mantuvo colocando focos azules de 40 watts dispuestos alrededor de esta, la potencia de los focos se disminuyó en tiempo de calor o se aumentó en el período de invierno, la temperatura ya con mayor estabilidad fluctuó en todos los casos de 25 a 30°C, se observó como ya esta descrito en la literatura que estas dos variantes: temperatura y humedad repercuten notablemente en la viabilidad y duración del ciclo de vida de la pulga, acortándolo a temperaturas más altas, exponiendo al principio a todas las fases todos los días al inóculo de huevos de *Toxocara canis*. Se buscó la forma de proporcionarles oxígeno a las larvas de pulga dentro de los frascos cerrados de gerber, por lo que se perforaron las tapas y recubrieron con una tela de malla fina, permitiendo la entrada de aire pero impidiendo que las pulgas adultas recolectadas o nacidas se fugaran.

6.3. INOCULACIÓN DE PULGAS

Las larvas 1 de pulga, fueron incapaces de ingerir los huevos larvados de *T. canis*, esto es fácil de explicarlo debido a que la primera fase larvaria es de reducidas dimensiones y el resultado imposible ingerir los huevos del nematodo.

Por esta razón el estudio se limitó a tratar de inducir la infestación en las fases larvianas 2 y 3 Las larvas 2 de pulga que se expusieron a las larvas del nematodo si fueron capaces de ingerir las fases infestantes, presentaron un promedio de larvas positivas del 0.86% y una tasa de mortalidad por el nematodo *T. canis* del 70%, las larvas en las que se presentó la mortalidad se caracterizaban por la pérdida gradual de la movilidad y el desarrollo de una coloración rojizo-pálida o rosada al momento de su muerte, (Fotografía 16 y 17) aquí se debe considerar que las larvas del nematodo en función a la proporción del tamaño corporal de las larvas de pulga son grandes y por lo tanto tienen una capacidad importante para provocar alteraciones en el interior de su cuerpo. El único modelo de referencia con el que se puede comparar relativamente este estudio es el del desarrollo de los cisticercoides de *Dipylidium caninum* en los que se ha descrito mortalidades de hasta el 60% de los individuos y estos presentaron cambios similares en comportamiento y apariencia, las alteraciones parecen ser principalmente debidas a lesiones producidas en las paredes del intestino de las larvas por la penetración de las oncósferas que migran a la cavidad hemocélica para desarrollar el metacestodo, en este caso el objetivo es crecer y posteriormente enquistarse en esta cavidad, en contraste las larvas de este nematodo crecen aumentando notablemente su talla, y, a diferencia del metacestodo no se enquistan ni inmovilizan sino que se sabe que se mantienen en movimiento en el interior y esta movilidad representa una posibilidad muy elevada de daño a las larvas de pulga repercutiendo en la mortalidad de las mismas (Krumer, 2001)



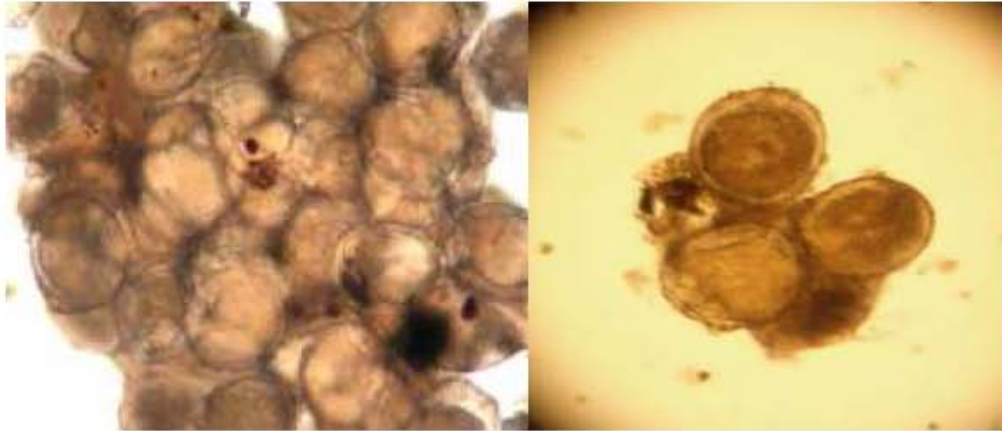
Fotografía 16. Larva 2 de pulga muerta por *T. canis*, de tonalidad rojiza.



Fotografía 17. Larvas de pulga muerta por *T. canis*. Su muerte ocurre antes de adoptar la forma "U" prepupal.

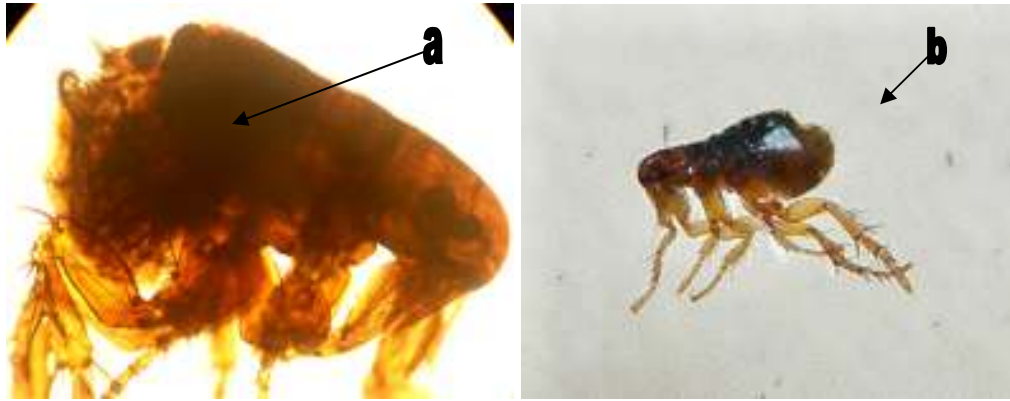
Los artrópodos en forma genérica presentan una serie de mecanismos de respuesta inmune que los protegen de los distintos tipos de agentes infecciosos con los que pueden interactuar, en el caso de las larvas de *T. canis* estas ingresan al cuerpo de las larvas de pulga por vía oral, los artrópodos presentan a este nivel un revestimiento en su mayor parte por una cutícula aisladora que produce profenoxilasas (productos enzimáticos), que entre diversos productos metabólicos dan origen a la melanina, la cual se deposita sobre los agentes infecciosos de diferente naturaleza en forma de cristales que los atrapan e inmovilizan. En su interior a nivel de tubo digestivo presentan una cobertura cuticular que funciona como barrera mecánica, la cual impide el acceso a los agentes infecciosos, además cuenta con el sistema enzimático de la profenoloxidasas que a este nivel también permite la formación de la melanina como sistema inespecífico de defensa, la única zona vulnerable que se presenta corresponde al intestino medio que actúa como estómago y que se encuentra recubierto solamente por una membrana peritrófica, que funciona como una barrera mecánica, que en caso de ser rebasada permite el acceso a la cavidad hemocelica, en este sitio ocurre la activación de otros mecanismos de inmunidad. Entre los mecanismos podemos encontrar componentes de la respuesta inmune celular en la que destaca la participación de los plasmocitos células fagocitarias muy activas de acción inmediata contra los agentes infecciosos, las cuales, a su vez activan a las células granulares que se degranulan y liberan profenoloxidasas, con formación de cristales y además activa procesos de coagulación localizada de la hemolinfa, inmovilizando al agente infeccioso que queda incluido dentro del coagulo. Otro grupo de células son los endocitos y los enocitoides que participan en la formación de profenoloxidasas, reforzando la formación de cristales de melanina. La respuesta inmune humoral incluye en parte a los órganos hematopoyéticos que son acúmulos de células y además promueve la formación de los prohemocitos o precursores celulares, en esta zona, estas células tienen importantes propiedades fagocíticas y esta se complementa con la activación de los nefrocitos que se acumulan en las paredes del insecto que, ante la presencia de agentes infecciosos se desprenden para ejercer la fagocitosis, finalmente el equivalente al hígado son los cuerpos grasos formados por proteínas, carbohidratos y ácidos grasos que participan como factores estimulantes de la fagocitosis, de aglutininas, lizosimas y la lisina que en invertebrados actúa como un sistema equivalente al complemento, todos estos elementos tienen una función equivalente al de la respuesta inmune humoral. Las dos formas de respuesta identificadas trabajan simultáneamente en este caso y los procesos observados en los artrópodos tienen bastante semejanza con los de los mamíferos o equivalentes en la evolución y resultan eficientes contra una gran cantidad de organismos con los que habitualmente interactúan estos. Aquí habrá que considerar que en organismos superiores los parásitos (y las larvas de *T. canis* en particular están muy especializadas) cuentan con una amplísima gama de mecanismos que les permiten evadir los sistemas de fagocitosis, de lisis o los sistemas que podrían atraparlas e inactivarlas y por tanto no se producen los resultados esperados en cuanto al bloqueo y destrucción del parásito. Por esta razón las larvas provocan un elevado nivel de destrucción que

repercute en el debilitamiento y muerte de los insectos. El proceso observado puede ser explicado desde una óptica ecológica como el de un patógeno instantáneo, con una gran capacidad patogénica y por tanto matando a todos los organismos con los que llegue a interactuar (Soulsby, 1987).



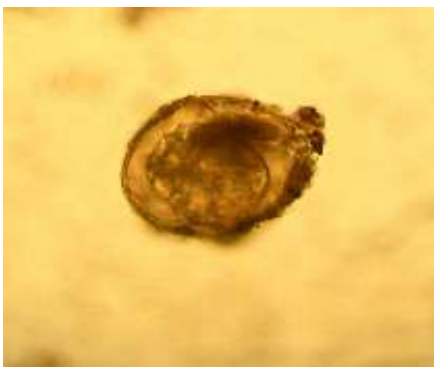
Fotografía 18 y 19. Acúmulos de huevos de *T. canis* incluidos en una sustancia café (aparentemente melanina), obtenidos de larvas tres de pulga previamente infestadas.

La infestación de larvas 3 de pulga, mostró un porcentaje de larvas vivas positivas del 5.71%, las larvas de *T. canis* aquí encontradas no habían eclosionado encontrándose grandes acúmulos de huevos envueltos en una sustancia color café (Fotografía No. 18 y 19) que por el aspecto puede corresponder a la melanina formada por efecto del metabolismo de la profenoloxidasa al parecer, que debido a que poseen una mayor reserva de ácidos grasos, son capaces de desarrollar una respuesta inmune más eficaz que la implementada por la larva 2 de pulga; la mortalidad por causa del nematodo *T. canis* fue del 52.75% aquí las larvas 3 de pulga, morían después de mucho tiempo de inmovilidad, formando o no la fase prepupal en "U" y quitinizándose, algo similar se ha descrito en el modelo de referencia con *D. caninum* que induce un porcentaje de mortalidad en larvas 3 de hasta el 20%, donde al igual que en nuestro experimento las oncosferas vagan o yacen durante días y terminan muriendo. Otras larvas tejen sus capullos prepupales pero fracasan en el proceso de pupación. Al empupar, las larvas infestadas con *T. canis*, mostraron otra similitud con aquellas infestadas con cisticercoides de *D. caninum*, durante el periodo pupal, la disminución de las reservas en los cuerpos grasos causada por el desarrollo de los cisticercoides y por el desplazamiento y distorsión de cada cisticercoide causa la muerte de la pupa, en el experimento con *T. canis*, no se encontraron quistes en ninguna de las fases incluyendo las pupales, por lo que podemos suponer que la migración de la larva causó daño o consumo de las reservas grasas en la pupa, impidiendo la formación de adultas o causando las deformidades (Fotografía 20 y 21) encontradas en estas, sin embargo, de las 56 pupas recuperadas de larvas infestadas en su fase 2 o 3, hubo un bajo número de positivas (7%) a *T. canis*, el consumo de células grasas también ofrece una explicación para la muerte o falta de larvas de *T. canis* en pupas ya que se ha demostrado que los cuerpos grasos funcionan como sitios de síntesis y reserva de lípidos, proteínas y carbohidratos convirtiéndose en el equivalente vertebrado del hígado.



Fotografía 20 y 21. Pulgas adultas infestadas en fase larvaria 2 y 3 con *T. canis*, a) muestra un abdomen deforme no desarrollado; b) presenta deformidad en el área del sensilio.

En las pulgas adultas, infestadas en sus fases larvarias 2 y 3, se encontró un bajo número de individuos positivos a *T. canis* (0.39 y 2.24% respectivamente), la mayor parte de larvas de *T. canis* encontradas en las pulgas adultas permanecieron dentro del huevo, el cual presentaba superficie desgastada o perdió su forma típica (Fotografía 22), muchos de ellos cubiertos por una sustancia café oscura, a diferencia de lo encontrado en las larvas 3 de pulga que se encontraban unidas en grupos, aquí se encontraban aislados, solo algunas larvas fueron encontradas fuera del cascarón, tanto estas como las encontradas en huevos se hallaban muertas presentado en todo su cuerpo estructuras semejantes a vacuolas (Fotografía 23), haciendo suponer que algunas de las larvas no pudieron eclosionar por su condición debilitada o bien no encontraron las condiciones adecuadas para lograrlo, muriendo durante la fase de larva 3 o en el proceso de pupación, algunas de las larvas libres encontradas se veían transparentes reconocibles únicamente por su silueta marcada, podemos suponer que estas larvas de *T. canis* libres, pudieron vagar durante las mismas fases sin encontrar los medios adecuados para desarrollarse, causando daño a la larva de pulga o debilitándola evadiendo el sistema inmune, este daño en la larva de la pulga habría exigido un importante gasto de energía por el insecto y dio origen a las malformaciones encontradas en los individuos positivos, los cambios observados consistían en abdómenes pequeños, exoesqueletos débiles y patas atrofiadas o con articulaciones invertidas, presentándose en una proporción de 1.5% en adultas infestadas en fase 2 y 8.25% de deformidades en adultas infestadas en fase 3.



Fotografía 22. Huevo de *T. canis* obtenidos de una larva 3 de pulga previamente infestada. Sus bordes desgastada están cubiertos con una sustancia café (aparente melanina), dentro se observa una larva.



Fotografía 23. Larva de *T. canis* obtenida de una larva 2 de pulga previamente infestada; muestra una serie de vacuolas en su parte anterior.

Las pulgas adultas infestadas en fase de larva 3 presentaron un tamaño promedio de 1.69 mm, este era menor respecto a las pulgas infestadas en fase de larva 2 cuyo tamaño promedio fue de 2.06 mm, estas a su vez, fueron menores en tamaño promedio a las pulgas control con 2.17 mm, lo que supone un desgaste generado por las larvas de *T. canis* de las reservas de nutrientes, o como consecuencia de una respuesta inmune desarrollada por la larva. Todas las larvas del nematodo encontradas en las pulgas adultas carecían de movilidad y presentaban un aspecto característico de vacuolización en su interior y, la probabilidad de que sobrevivieran por un período prolongado era imposible. La infección natural por las larvas de este nematodo en las pulgas en sus diferentes estados evolutivos, puede considerarse como un factor limitante para el desarrollo de las poblaciones de insectos, ya que en función a los resultados obtenidos en este trabajo la infección produce una gran mortalidad entre las fases larvianas, afecta el proceso de metamorfosis provocando malformaciones en los individuos que sobreviven en esta fase y en las larvas del nematodo que se recuperan de las pulgas adultas presentan alteraciones tan importantes como para impedirles la supervivencia y, consecuentemente su posible participación como hospederos paraténicos en el ciclo de vida del nematodo.

7. CONCLUSIONES.

- Se logró establecer a nivel de laboratorio el ciclo evolutivo de la pulga *Ctenocephalides felis felis*, a partir de los huevos obtenidos de animales infestados naturalmente, la exposición de las diferentes fases evolutivas a los huevos larvados de *Toxocara canis* mostró que solo a partir del segundo estado evolutivo son capaces de ingerir los huevos larvados.
- Las larvas de *T. canis*, tras su ingestión por las larvas de pulga, son causales de alteraciones que provocan elevadas tasas de mortalidad entre ellas, algunas larvas son capaces de mantenerse hasta la fase adulta, sin embargo, los ejemplares recuperados presentan alteraciones en tamaño o conformación corporal (deformidades) que al parecer les provoca la muerte y con esto limitan la posible participación de la pulga como hospedador paraténico, bloqueando la posibilidad de que el ciclo biológico del nematodo pueda continuar.

8. ANEXOS.

Durante el análisis de los datos obtenidos con respecto al tamaño de las pulgas, entre los grupos, observamos variaciones significativas, por lo que el análisis estadístico esta basado en ello, con el fin de determinar si el nematodo *T. canis* afecto de algún modo su desarrollo:

Tabla 17. Resumen de los tamaños obtenidos en pulgas adultas en diferentes etapas.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Pulgas adultas infestadas en fase 2 con <i>T. canis</i>	300	616,383634	2,05461211	0,07550281
Pulgas adultas infestadas en fase 3 con <i>T. canis</i>	301	508,548012	1,68952828	0,05105501
Pulgas adultas control	301	653,902576	2,17243381	0,05281177

De estos valores se obtuvo el siguiente análisis de la varianza de un factor, mediante el programa Excel:

Tabla 18. ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	38,1565785	2	19,0782893	319,182337	1,815E-105	3,00573788
Dentro de los grupos	53,7353733	899	0,05977238			
Total	91,8919518	901				

Tabla 19. Comparación de F calculada contra F de tablas.

F calculada	319,182337
F de tablas	199.5

El valor de F calculada es de 319,182337 mayor que el valor F de tablas o de referencia 199.5 es decir, el valor SI es significativo. Lo que implica que *T. canis* influye en el desarrollo de las larvas de la pulga en cuanto al tamaño.

9. BIBLIOGRAFÍA.

- Adams R.H. 2003. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. 2ª edición. Editorial Acribia. España.
- Alcaino H. 2002. PARASITOLOGÍA LATINOAMERICANA: NUEVA ETAPA DE DOS REVISTAS DE PARASITOLOGÍA EDITADAS EN CHILE. Parasitol. Latinoam. 57 (1-2).
- Ballweber L.R. 2001. Veterinary Parasitology. "The practical Veterinarian". Editorial Butterworth/Heinemann. Boston.
- Bojanich M.V.; Alonso, J.M.; Chamorro M. 2006. Evaluación de Antígenos de E/S de *Toxocara canis* para Tests Inmunoenzimáticos Instituto de Medicina Regional - Universidad Nacional del Noreste. 92 (15-23)
- Borchert A. 1981. Parasitología Veterinaria. Editorial Acribia. Zaragoza, (España).
- Bowman D.D.; Kynn R.C. 1999. Parasitology for Veterinarians. 8th editorial. Editorial W. B. Saunders. Philadelphia.
- Bowman D D. 2003. Parasitology for veterinarians. 9ª editorial. Editorial W. B. Saunders. Philadelphia.
- Brusca R.; Brusca G. 2003. Invertebrates. Editorial Sinauer. Sunderland (Massachusetts).
- Casasbuenas P. 2005. Endoscopia digestiva, Coló-proctología y Hepatología CASO CLÍNICO INTERINSTITUCIONAL. MD1 Infección por *Dipylidium Caninum*. Asociaciones Colombianas de Gastroenterología. 6 (8-9).
- Chappell C.; Enos J.; Penn H. 1990. *Dipylidium caninum*, an underrecognized infection in infants and children. Pediatric Infectious Disease Journal. 9 (10).
- Cheng T.C. 1978. Parasitología general. Editorial A.C. Madrid (España).
- Cordero C.M.; Rojo V.F.A.; Martínez F.A.R.; Sánchez A.M.C.; Sánchez R.S.; Navarrete L.C.I.; Díez B.P, Quiroz R.H.; Cavalillo V.M. 2000. Parasitología Veterinaria. Editorial. McGraw-Hill*Interamericana. Madrid (España).
- De la Fe R.P. 2006 *Toxocara canis* y Síndrome Larva Migrans Visceralis (*Toxocara canis* and Syndrome Larva Migrans Visceralis Dpto. de Inmunoprotección y Zoonosis. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Ciudad de La Habana (Cuba) 7 (4).
- Devera R.; Campos F. 1998 Dipilidiósis humana. Revista Bioned. 9 (1).
- Durin A.M.; Phd. M.R.C.V.S. 1969. Veterinary Helminthology. Editorial Willian Heineman Medical Books LTD. Londres.
- Eguía P. 2004. Ecological analysis and description of the intestinal helminths present in dogs in México city. Veterinary Parasitology. Editorial Elsevier España S.A.
- Fernández A.C.R.; Ortiz R.C.G. 2004. Evaluación del Tratamiento con Dosis Repetitivas de una Asociación Albendazol-Ivermectina Contra Las Larvas Enquistadas de *Toxocara Canis* en Ratones Blancos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Estado de México.
- Gage K.L. 2005. Fleas, the Siphnoptera. Editorial Elsevier. España.

- George W.W.; David M.W. 2004. Introducción a los Insecticidas. Extraído de The Pesticide Book. 6th edición. Publicado por Meister Pro Information Resources una division de Meister Media Worldwide Willoughby. University of Minessotta. Ohio.
- Georgi R, DVM.; Georgi E. 1994. Parasitología en clínica canina. Editorial. Interamericana Mc Graw-Hill. México.
- Holton K.; Pepper D. 2003. Prevention of Zoonotic Transmisión of ascarids and Hookworms of dogs and cats. Guidelines for Veterinarians. Division of Parasitic Diseases, National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, in cooperation with the American Association of Veterinary Parasitologists (AAVP).
- Janeway A.; Travers P.; Walport M.; Shlomchik J.M. 2003. Inmunobiología. El Sistema Inmunitario en condiciones de Salud Enfermedad. 2ª edición. Editorial Manson. Barcelona España.
- Kassai T. 2002. Helminología Veterinaria. 28ª edición. Editorial Acribia. Zaragoza (España).
- Krümer F.M.N. 2001. Flea Biology and Control. "Tee Biology of the cat flea, control and Prevention with Imidacloprid in small animals". Editorial. Springer. USA.
- Lapage G. 1981. Parasitología Veterinaria. 6ª edición. Editorial Continental S.A. México
- Lebreux B. 1997. Evaluation of the efficacy of a diazinon + pyriproxyfen collar in the treatment and control of flea infestation in cats. J Vet Pharm Therap. 20 (157).
- López H.E.; Mejia L.J. 2003. Efecto de dosis repetitiva de ivermectinas sobre las larvas enquistadas de *Toxocara canis* en ratones blancos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Izcalli Estado de México.
- Martínez L.J.P. 2005. Detección del depósito de antígenos de excreción-secreción de larvas somáticas de *Toxocara canis* en los tejidos de jerbos con intención inducida. Tesis Maestría (Maestría en Ciencias Microbiología)-UNAM, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
- Mc. Donald B.J. 1998. An investigation on the influence of feline flea allergy on the fecundity of the cat flea. Vet Dermatol. 9 (75).
- Nesbitt, G.H. 2001. Dermatología canina y felina "Diagnóstico y Tratamiento". Editorial Inter.-Médica. Buenos Aires (República Argentina).
- Plump D.C. 2006. Manual de Farmacología Veterinarias. 5ª edición. EditoRial Intermédica, Buenos Aires (República Argentina).
- Queralt M.; Brazis P.; Fondati A.; Pulgdermont A. 2000. Dermatitis alérgica a la picadura de la pulga (DAPP) en perro y gato. Dpto. de farmacología y Terapéutica, Facultad de Veterinaria VAB, Bellaterra-Barcelona. Consulta de Difusión Veterinaria. 8 (72).
- Quiroz H. 1999. Parasitología y enfermedades parasitarias de Animales Domésticos. 9ª edición. Editorial Limusa SA de CV y UTEA-Noriega Editores. México.
- Radman E.; Archelli S.M.; Burgos L.; Fonroug R.D.; Del Valle M. 2006. Parasitología *Toxocara canis* en caninos. Prevalencia en la ciudad de La Plata. Acta Bioquím Clín Latinoam. 40 (1).
- Roberts L.J.J. Foundations of Parasitology. 6th edition. Editorial McGraw-Hill. USA.

Roitt M.; Delres J. 2003. Inmunología Fundamentos. Editorial Panamericana. Argentina.

Scott D.W.; Miller W.; Griffin C.E. 2002. Dermatología en pequeñas especies. 6ª edición. Editorial Interamericana. Buenos Aires (República Argentina).

Scott M. 2002. Dermatología en pequeños animales. 6ª edición. Editorial Interamericana. Buenos Aires (República Argentina).

Shore L. 2001. Diagnostic Medical Parasitology. Editorial ASM Press. Washington D.C.

Soulsby E.J.L. 1988. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los animales Domésticos. 7ª edición. Editorial Inteamericana. Buenos Aires (República Argentina).

Soulsby E.J. 1987. Immune responses in parasitic infections in immunology, immunopathology and immunoprophylaxis. "Protozoa, Arthropods and Invertebrates". Volumen 4. Editorial CRC Press. Boca Raton (Florida).

Sumano H.S.; Ocampo L. 1995. Farmacología Veterinaria. 2ª edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. México.

Tizard I.R. 2002. Inmunología Veterinaria. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México.

Urquhart G.M.; Armour J.; Duncan J.L.; Dunn A.M.; Jennings F.W. 2001. Parasitología veterinaria. 2ª edición. Editorial Acriba. Zaragoza (España).

Wall R.; Shearer D. 2001. Veterinary Ectoparasites. "Biology, Pathology & Control". Editorial Blackwell Science. Oxford.